

SVEU ILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO-MATEMATI KI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

EVO-DEVO

SEMINARSKI RAD

Tena Gržan
Preddiplomski studij molekularne biologije
(Undergraduate programme of molecular biology)
Mentor: doc. dr. sc. Damjan Franjevi

Zagreb, 2013.

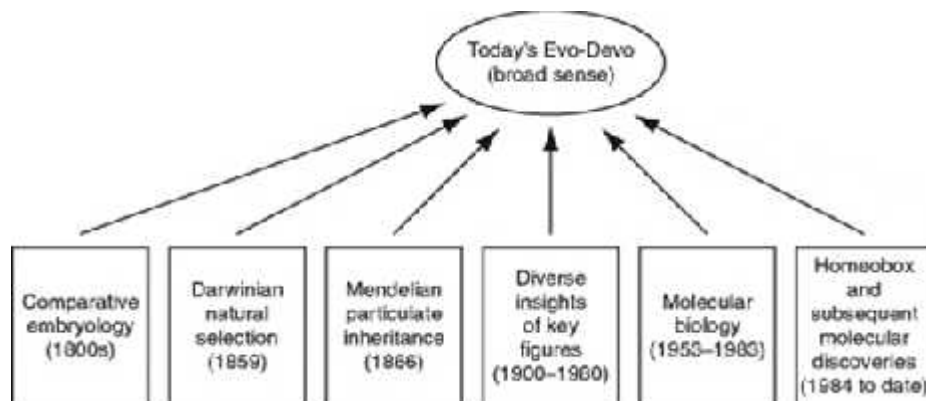
Sadržaj

1. Uvod.....	1
2. Hipoteze o nastanku li ina kog stadija.....	2
2.1. „Larva-first“ hipoteza	3
2.1.1. Povijesni pregled.....	3
2.1.2. „Trochaea“ hipoteza.....	4
2.1.3. Procesi kojima su se razvili li ina ki i adultni planovi tijela.....	6
2.2. „Adult-first“ hipoteza.....	6
2.2.1 Razmatranje o nastanku i konvergencijama li ina kih zna ajki.....	8
2.2.2. Filogenija i hipoteze o porijeklu li inke.....	10
2.3. „Biphasic development-first“ hipoteza.....	12
3. Karakteristike kambrijskih i neoproterozoi kih fosila.....	14
3.1. Kambrijska eksplozija.....	14
3.2. Potencijalni embriji iz neoproterozoika.....	15
4. Posljednji zajedni ki predak protostomi nih i deuterostomi nih organizama.....	15
5. Pridruživanje gena.....	19
5.1. Pridruživanje gena u evoluciji segmenata.....	19
5.2. Pridruživanje gena u evoluciji o iju.....	20
6. Rasprava i zaklju ci.....	22
7. Literatura.....	28
8. Sažetak.....	33
9. Summary.....	33

1.Uvod

Znanstvenici su dugo vremena smatrali da su planovi tijela različitih koljena životinja evoluirali sintezom i međudjelovanjem različitih genskih produkata. Iz toga je proizlazilo da što je veća razlika u animalnoj građi, manje zajedničkog ima razvoj dviju životinja iz različitih koljena na razini gena. No, suprotno njihovim pretpostavkama, većina Hox gena koji su bili prvi identificirani kao geni koji upravljaju glavnim aspektima tjelesne organizacije vinske mušice, imaju odgovarajuće homologe koji vrše istu funkciju u većini životinja. Nakon ovog otkrića, uslijedilo je otkriće da je evolucija različitih dijelova tijela kao što su oči, udovi i srce, koji su znatno različitiji u građi između različitih koljena, većina istih gena u različitim koljenima, iako se prije smatralo da su evoluirali potpuno različitim načinima. Usporedba gena odgovornih za razvoj između vrsta postala je nova disciplina u područjima embriologije i evolucijske biologije: evolucijsko-razvojna biologija ili skraćeno Evo-Devo (od *eng.* **evolutionary developmental biology**) (Carroll, 2005). Najkonciznije rečeno, Evo-Devo je grana biologije koja uspoređuje razvojne procese različitih organizama radi određivanja ancestralnog odnosa među njima i otkivanja kako su razvojni procesi evoluirali (Prum, 2003). Neki od glavnih temelja na kojima je izgrađena znanost Evo-Devo prikazani su na slici 1.

U daljnjem radu usmjerila sam se na aspekt unutar Evo-Devo koji još uvijek nije razjašnjen, a radi se o načinu na koji je evoluirao ličinski stadij u ontogenijama nekih skupina organizama. Postoje nekoliko hipoteza iz kojih su izvedene pretpostavke o tome kako se odvijala divergencija koljena, odnosno evolucija matičnih organizama bilateralnih koljena. Temeljno pitanje ovog rada je: Što je prvo nastalo evolucijom unutar carstva Animalia, ličinski ili adultni plan tijela (*eng.* **body plan**) (Raff, 2008)?



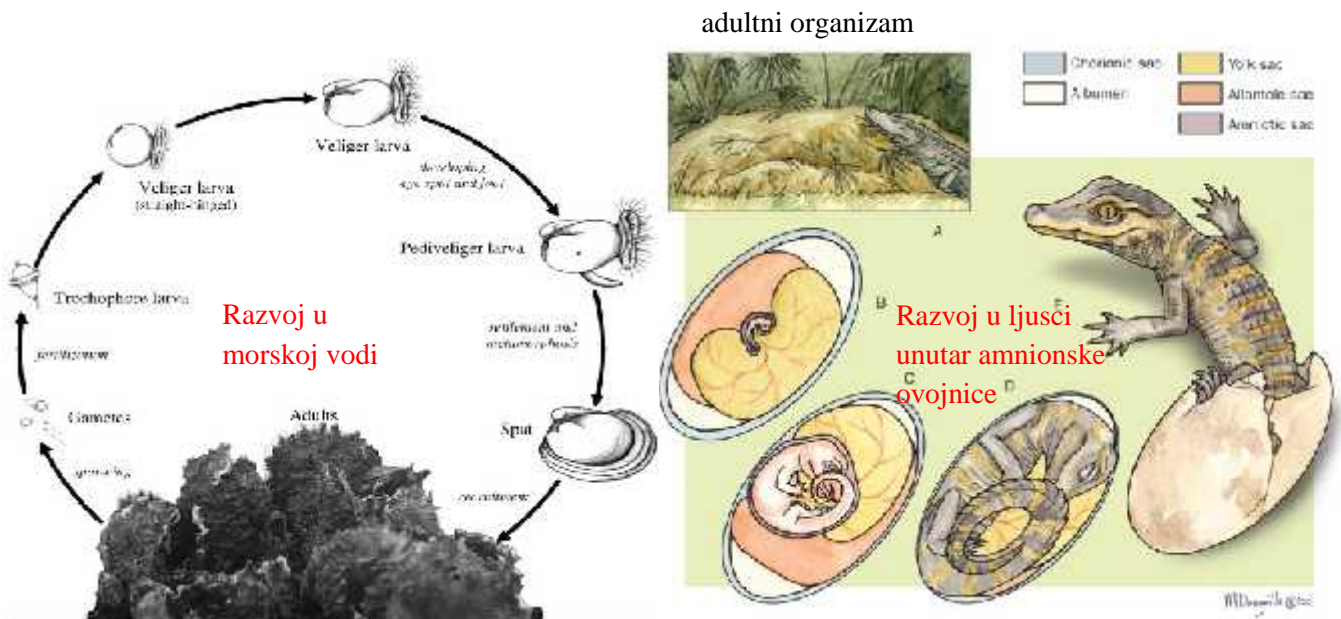
Slika 1. Osnove na kojima je temeljena znanost Evo-Devo (Preuzeto i preuređeno iz Arthur, 2011).

2. Hipoteze o nastanku li ina kog stadija

Thorsonova (1950) prva naga anja o ekološkim uzrocima i posljedicama razli itih obrazaca životnih ciklusa (*eng. life-history*) me u morskim beskralješnjacima dovela su do opisivanja 3 glavna tipa organizama:

1. s planktonskim li inkama koje se hrane
2. s planktonskim li inkama koje se ne hrane i
3. bez planktonskih li ina kih stadija

Prva dva tipa predstavljaju indirektno razvijaju e organizme, a tre i tip su direktno razvijaju i organizmi. Li inka kao temelj indirektnog razvoja se najbolje može definirati kao intermedijarni stadij tijekom ontogenije za koju su karakteristi na prijelazna strukturalna obilježja, uz napomenu da prijelazne strukture kao što su na primjer cilijarne vrpce ili apikalni organ degradiraju, tako da se iz njih ne razvijaju organi juvenilnih stadija. Gubitak tih struktura obilježava kraj li ina ke faze, što predstavlja doga aj zvan metamorfoza (McEdward i Janies 1993, Strathmann, 1993), uz koju ide i radikalna promjena u ekološkoj niši i prehrani. Li inke su samostalni entiteti koji se hrane i egzistiraju u okolišu. S druge strane, u ontogeniji direktno razvijaju ih organizama umjesto li ina kog stadija postoje embriji koji se postepeno razvijaju u procesu embriogeneze, generiraju i na kraju tog procesa juvenilni stadij koji ve posjeduje kompletan adultni plan tijela u minijaturnoj verziji. Juvenilni stadiji potom rastu i postižu spolnu zrelost, a stjecanjem tog svojstva postaju adultni stadiji. Embriji se hrane žumanjkom i razvijaju se unutar fertilne membrane, stoga nisu u izravnom kontaktu s okolišem. Upravo odsustvo interakcije s okolišem embrija *Danio rerio* u filotipskoj fazi možda je dovelo do zamijene ekspresije gena mla ih filostrata (važnih za razvijanje li ina kih struktura) s genima iz starijih filostrata. Primjeri krajnje direktno razvijaju ih organizama su Amniota (sisavci, ptice i gmazovi) i Cephalopoda (glavonošci), a krajnji predstavnici indirektnog razvoja s cilijarnom hrane om li inkom (*eng. feeding larva*) su Lophotrochozoa (nadkoljeno unutar skupine Protostomia) i deuterostomi ni morski beskralješnjaci (Slika 2.). Izme u ova dva ekstrema, životni ciklusi obuhvaaju široki raspon razvojnih na ina (Arenas-Mena, 2010).



a)

b)

Slika 2. Usporedba: a) krajnjeg indirektnog razvoja Bivalvia (školjkaši) iz koljena Mollusca (Preuzeto i preuređeno s web stranice:

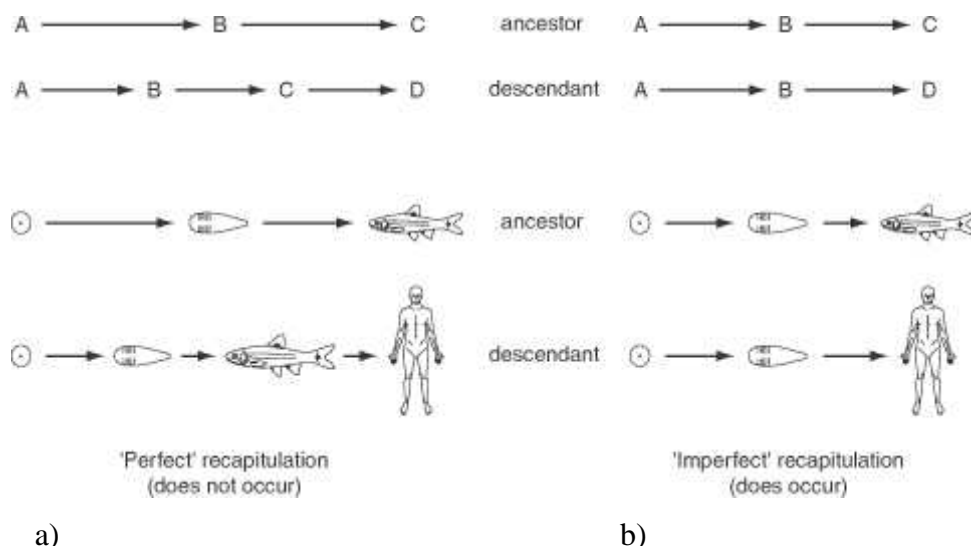
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385110110000274>) i b) krajnjeg direktnog razvoja Reptilia (gmazovi) iz koljena Chordata (Preuzeto i preuređeno s web stranice: <http://www.biokids.umich.edu/critters/2736/Reptilia/pictures/>)

Liinke veine životinja i njihovi adultni oblici imaju vidljivo različite planove tijela i ekološke niše u kojima egzistiraju (Raff, 2008). Na temelju opažanja tih razlika razvile su se tri hipoteze koje pokušavaju razjasniti porijeklo liina kog stadija u ontogeniji nekih organizama (Arenas-Mena, 2010), a to su „larva-first“, „adult-first“ i „biphasic development-first“ hipoteze o kojima će biti riječi u daljnjem tekstu i koje će određene pretpostavke biti detaljnije razmatrane.

2.1. „Larva-first“ hipoteza

2.1.1. Povijesni pregled

„Larva-first“ hipoteza proizlazi iz Haeckelovog rekapitulacijskog ili biogenetskog „zakona“ koji je sročena na sljedećina: „Taj fundamentalan zakon da je ontogenija rekapitulacija filogenije; ili nešto eksplicitnije: da niz oblika kroz koje pojedinačni organizam prolazi tijekom svojeg razvoja od jajne stanice do svojeg punog razvojnog stanja je kratka, sabijena reprodukcija dugog niza oblika kroz koje su životinjski preci tog organizma (ili ancestralni oblici njegove vrste) prošli od najranijeg perioda takozvanog organskog stvaranja nadalje do današnjeg vremena.“ (Haeckel, 1896). Ovaj „zakon“ izazvao je nedoumice: Je li Haeckel zbilja mislio da ontogenija potomaka prolazi kroz stadije slične adultnim oblicima njihovih predaka? Neuvjerljivim se čini da je tako iskusan znanstvenik zamijetio adultne pretke u embrijima potomaka. Stoga je ova slika u Haeckelovom umu bila slična sljedećoj von Baerovoj (1828) tvrdnji: „Općenite značajke velikih skupina životinja pojavljuju se ranije u embriju nego posebne značajke.“, koji je navedenu tvrdnju izveo na temelju uspoređivanja embrija različitih skupina kralježnjaka. Danas je odbačena navedena savršena rekapitulacija u kojoj evolucija dodaje novi razvojni stadij na kraj ancestralne ontogenije. Ona je zamijenjena s nesavršenom rekapitulacijom u kojoj se neke osobine ancestralne ontogenije ponavljaju (ili rekapituliraju) u razvoju potomaka, iako oni možda ne vode do funkcionalnih adultnih struktura u potomaka (npr. apikalni organ ili cilijarne vrpce). Ovaj oblik rekapitulacije se odvija uslijed činjenice da je često teško za prirodnu selekciju mijenjati ranije stadije u ontogeniji (Slika 3.) (Arthur, 2011).



Slika 3. Rekapitulacija filogenije kroz ontogeniju; a) Savršena rekapitulacija (ne događa se), b) Nesavršena rekapitulacija (događa se), (Preuzeto iz Arthur, 2011).

Prilikom analiziranja rekapitulacijske hipoteze trebalo bi uzeti u obzir i Haecklovu kolonijalnu hipotezu. Naime, on je predložio hipotetsku ranu evoluciju višestanih organizama koju je temeljio na analogiji s embrionalnim razvojem višestanih životinja. Dakle, smatrao je da su unutar prazivotinja neki oblici postali združeni, koji su izgledali kao šuplja lopta. Taj oblik je nazvao blastea (analogna blastuli u embriogenezi) i on je predstavljao pretka svih višestanih organizama. Iz njega se razvio daljnji hipotetski oblik jednostavne grane, koji je sastavljen od dva sloja stanica od kojih je unutrašnji (endoderm) vršio probavnu funkciju. Haeckel ga je nazvao gastrea (analogna gastruli) (Matonić, 1998).

Pretpostavljam da je Haeckel zaključio da se obrazac koji je uvidio u kolonijalnoj teoriji nastavio tokom daljnje evolucije. Drugim riječima, rekapitulaciju rane filogenije višestanih organizama (blastea iz koje je evolucijom nastala gastrea) u ontogeniji svih višestanih (blastula iz koje gastrulacijom nastaje gastrula), proširio je na cijelu filogeniju odnosno ontogeniju.

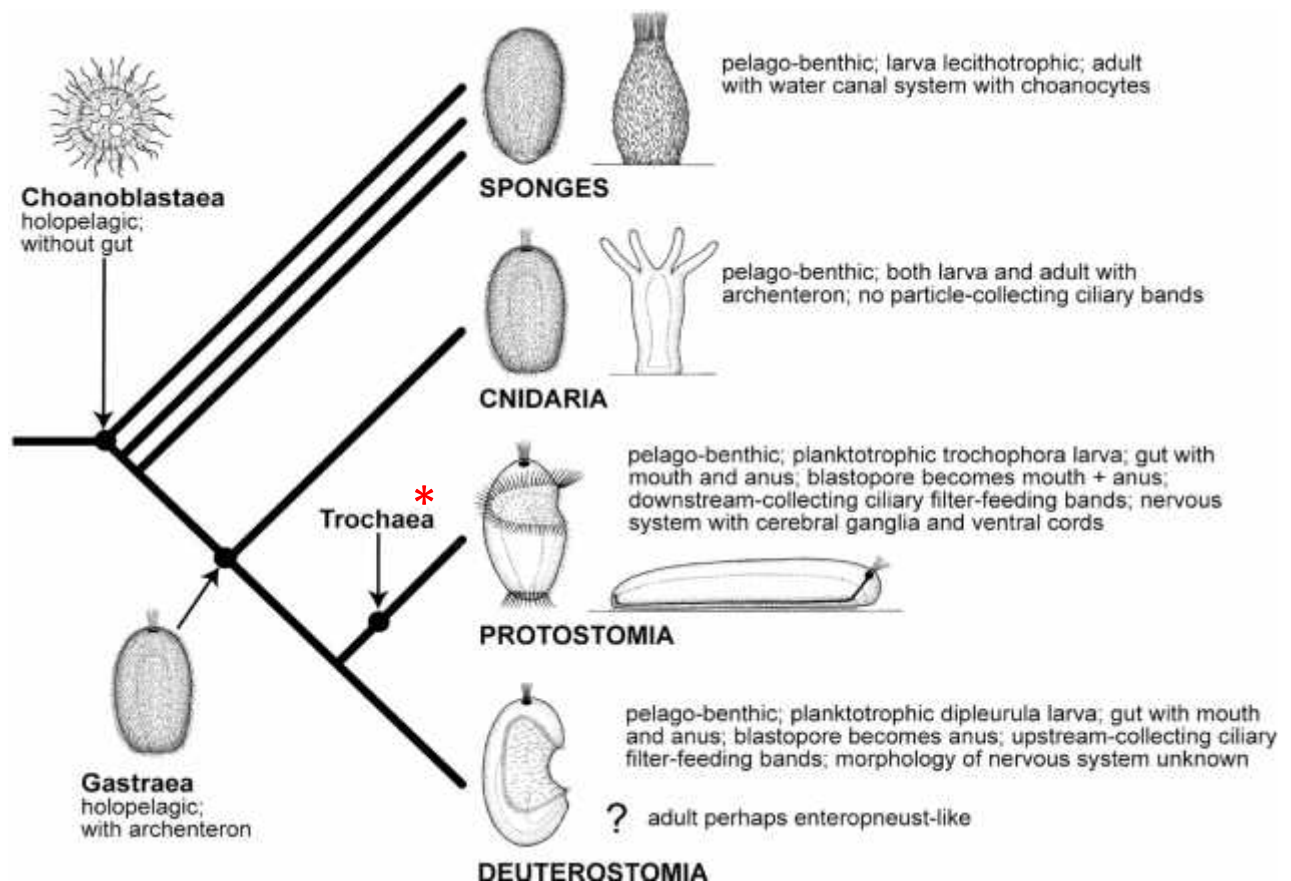
Jägersten (1972) je sažeo svoje viđenje rane evolucije Metazoa na sljedeći način: dvije faze životnog ciklusa (adultni i litički) nastali su kad se odrasli organizam ujedno i predak svih višestanih, holopelagičar (isključivo pelagičar) radikalno simetrična blastea spustila kako bi živjela na morskom dnu i postala je bilateralna, dok je njezina juvenilna faza ostala u pelagičkoj zoni. Nielsen i Nørrevang (1985) su predložili da je pelagičar gastrea evoluirala u pelagičku trochaeu, ličinku nalik na posebni tip živuće hrane i ličinke, koja je predak protostomičnih i deuterostomičnih organizama. Potonji prijedlog je Nielsen u kasnijim radovima modificirao, smjestivši trochaeu na protostomičnog ogranak (Slika 4., crvena zvijezdica).

2.1.2. „Trochaea“ hipoteza

„Larva-first“ ili „terminal addition“ hipoteza, (hrv. terminalno dodavanje hipoteza) razvijena je kao „trochaea“ hipoteza. Izgrađena na ranijim prijedlozima Haeckla, Hatscheka i Jägerstena, „trochaea“ hipoteza predlaže da su višestanični organizmi prije nastanka bilateralnih organizama bili mali, isključivo planktonski organizmi koji su plivali i lovili

raspršene estice hrane koriste i samo cilijarne vrpce. Iz ovog mati nog oblika evoluirale su trohoforske i dipleurske (zajedni ki naziv tornaria) linije, a svaka navedena linija je naknadno dodala benti ki stadij životnom ciklusu. Spolno dozrijevanje je preba eno terminalnom benti kom stadiju, me utim plivaju e i hrane e tohfore i dipleure su zadržane kao li ina ki oblici protostomi nih i deuterostomi nih organizama (Page, 2009 i Arenas Mena, 2010).

Nielsen (2009) smatra da se rana evolucija Metazoa odvijala na razini vrlo jednostavnih, planktonskih li inkama sli nih organizama, a da su poslije zasebno evoluirali benti ki kompleksniji stadiji u 4 skupine (Polifera, Cnidaria, Protostomia i Deuterostomia). Ovakve tvrdnje su esto bile osporavane, budu i da zahtijevaju veliki broj konvergencijskih evolucijskih doga aja, npr. u evoluiranju dugih sljedova Hox gena. No, kriti ari ne uzimaju u obzir da su jednostavni, li inkama sli ni organizmi u svome genomu mogli imati mati ni Hox gen ija je izvorišna funkcija možda bila razli ita od funkcije današnjih Hox gena i iz kojeg je daljnjim duplikacijama nastala Hox obitelj. Arenas-Mena (2010) predlaže da je originalna funkcija Hox geni bila u razvoju gonada. Neovisno u svakome koljenu dupliciranjem ishodišnog Hox gena, moglo je do i do regrutiranja tih gena za razvitak anteriorno posterioarne osi.



Slika 4. Prijedlog evolucije životnog ciklusa glavnih grupa višestani nih organizama koji ukazuje na tri ili etiri neovisne evolucije benti kih stadija (Preuzeto i preure eno iz Nielsen, 2009).

2.1.3. Procesi kojima su se razvili li ina ki i adultni planovi tijela

Kako bismo razumjeli evoluciju različitih animalnih planova tijela, nužno je poznavati na koji se način na genetici koj razini regulira razvoj organizama. Prvi višestanični organizmi (li inkama slični organizmi) izgrađuju svoja tijela koristeći mehanizam embriogeneze tipa 1 koji polazi od dijeljenja zigote u osnivačke stanice koje generiraju specifične stanične linije, od kojih svaka uskoro počinje eksprimirati određene gene i konačno generira određene dijelove kompletnog embrija. Izgradnja embrija embriogenezom tipa 1 zahtijeva djelovanje diferencijacijskih genskih baterija i zahtijeva da stanice budu sposobne djelovati na međusobne genetike aktivnosti u specifičnim signalnim putovima. Sve indirektno razvijaju se životinje (koje su ispitane do 1998.) koje proizvode cilijarne hranečeliinke, generiraju ih tipom 1 embriogenetskih procesa. Dakle, ovaj tip embriogeneze dovoljan je za izgradnju jednostavno građenih li inkama sličnih organizama koje sadrže samo nekoliko tisuć stanica, a koje su samodostatne zato što se mogu hraniti i pokretati. (Cameron, 1998)

Nadalje, Cameron i suradnici smatraju da je juvenilno/adultno tijelo morskog ježinca naraslo od nakupine multipotentnih izdvojenih stanica (*eng.* set-aside cells) unutar li ina kog tijela, koje ne doprinose li inanim organima i ostaju multipotentne za stvaranje adultnih struktura (Pehrson i Cohen, 1986). Ova embriogeneza tipa 2 je protumačena kao inovacija koja olakšava evoluciju većih tijela, što je omogućilo nastanak kompleksnijih bentikih organizama (Page, 2009).

Glavna zamjerka pretpostavke o hipotetskim izdvojenim stanicama je da treba uračunati selektivnu ulogu tih stanica prije nego što je novi bilateralni i bentikistadij uopće evoluirao, što zahtijeva selekciju za nove razvojne elemente prije nego što su oni potrebni (Raff, 2008). Postavlja se pitanje kakve bi koristili neki jednostavni, prekambijski li inkama slični organizmi imali od stanica koje su multipotentne i nediferencirane? Vrlo jednostavna evolucijska činjenica da se konzerviraju samo one inovacije koje donose prednost organizmima dovodi u pitanje pretpostavku o izdvojenim stanicama.

Još jednu kritiku izdvojenih stanica naglašava Arenas-Mena (2010), zagovornik „biphasic development-first“ hipoteze. On smatra da su za razvoj adultnog plana tijela iz li ina kog plana tijela važnije diferencirane stranice koje su se djelomično dediferencirale i ponovno rediferencirane, pritom poprimivši novu ulogu, nego isključiv razvoj adultnih oblika iz izdvojenih stanica.

2.2. „Adult-first“ hipoteza

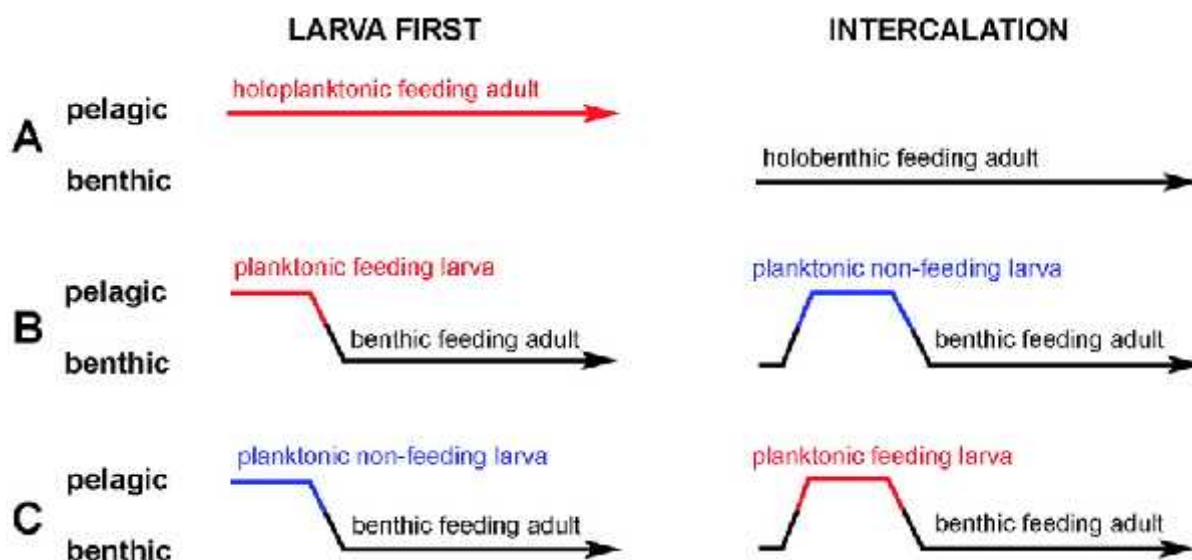
„Adult-first“ ili „intercalation“ hipoteza (*hrv.* interkalacijska hipoteza ili hipoteza umetanja) pretpostavlja da su prvi bilateralni organizmi bila kompleksnija a koja su obitavala na dnu mora, u bentičkoj ekološkoj niši (Slika 4. A). Ovi ancestralni bilateralni organizmi sekundarno su evoluirali planktonsku li inku evoluiranjem cilijarnih vrpca u ranom stadiju ontogenije, nakon kojeg je taj novostvoreni stadij prešao na bentos, razvijaju i već postoje i bentikistadij (Sly i sur., 2003). Intercalacijska hipoteza predviđa da je planktotrofnost (hranjenje planktonom) izvedeno li inako stanje u bilateralnim skupinama organizama i da je vjerojatno evoluiralo neovisno više puta u različitim koljenima. Osim toga,

smatraju da je li inka evoluirala regrutiranjem gena nastalih tijekom zasebne evolucije u pojedina nim koljenima, pa stoga te li inke imaju ekspresiju druga ijih gena, a egzistencija u sli noj ekološkoj niši je dovela do evoluiranja sli nih karakteristika (cilijarne vrpce i apikalni organ) (Raff, 2008). Primjer konvergentne evolucije nalazimo kod evoluiranja analognih organa krila u kukaca, ptica i sisavaca. Dakle, sli ni organi koji se mogu svesti pod isti pojam krila, nastali su kao prilagodba na istu ekološku nišu i tako er nisu produkt djelovanja istih gena.

Mnogi znanstvenici tvrde da je nemogu e zamisliti kako su adultni benti ki stadiji mogli evoluirati više puta tokom evolucije od jednostavnih, pelagi kih, planktotrofnih predaka (Degnan i Degnan, 2006, Raff, 2008). Odnosno, puno je lakše zamisliti da je od ve kompleksnog benti kog organizma, takozvanim umetanjem, odnosno evoluiranjem više puta neovisno nastala jednostavna planktonska li inka. No, postavlja se pitanje zašto bi kompleksne životinje razvile li ina ki stadij koji je ranjiviji nego kompleksni, benti ki organizmi? Prema ovoj hipotezi u razdoblju prije kambrija nisu postojali plivaju i morski kompleksni organizmi, stoga su benti ki organizmi, kao „bijeg“ od predatorstva na morskom dnu, pronašli su u razvijanju planktonske li inke. U tablici 1. navedeni su ostali razlozi za koje se smatra da su utjecali na stvaranje li ina kog stadija u direktno razvijaju im benti kim životinjama.

Tablica 1. Selektivne sile koje su djelovale na evoluciju planktonske li inke u kambrijskim morima (Preuzeto iz Raff, 2008)

Svojtvo	Prednost
Hranjenje li inke	Niže ulaganje u svako jaje
Niže ulaganje u pojedina no jaje	Više proizvedenih jaja
Ve i broj jaja	Pove anje broja preživjelih organizama
Planktonsko plivanje	Bježanje od benti kih predatora
Planktonsko hranjenje	Iskorištavanje nove ekološke niše
Pokretljivost i vrijeme provedeno u stupcu vode	Pove anje disperzije
Evolucija novih li ina kih karakteristika koje se razlikuju od adultnih karakteristika	Niža ekološka kompeticija
Metamorfoza	Brzi razvojni preokret u tjelesnom obliku



Slika 5. Ilustracija tri evolucijskih stadija (A-C). Kod „larva-first“ hipoteze, stadij A sadrži holoplanktonski hrane i adult („trochaea“ hipoteza predlaže da su protostomske i deuterostomske linije odvojene na ovom stadiju); stadij B je dodao terminalni, benti ki adultni stadij, a originalni planktonski stadij je spolno nezrela hrane a li inka; stadij C je prijelaz planktonske li inke od one koja se hrani do one koja se ne hrani. Kod interkalacijske hipoteze, stadij A sadrži holobenti ki adultni organizam; stadij B je dodao planktonski li ina ki stadij ranom razvoju; stadij C je prijelaz planktonske li inke od nehrane e do hrane e. (Preuzeto iz Page, 2009)

2.2.1 Razmatranje o nastanku i konvergencijama li ina kih zna ajki

Pobornici „adult-first“ hipoteze predlažu da su razli ite linije višestani nih organizama istovremeno evoluirale planktonsku li inku. Linije su evoluirale planktonske li inke s osobitostima navedenim u tablici 2. koje su ste ene pridruživanjem razli itih skupova regulatornih gena za postizanje kontrole razvoja sli nih li ina kih morfoloških struktura. Takva konvergencija je manje zahtjevna nego ona koja je potrebna za neovisno evoluiranje mnogih linija bilateralnih organizama s kompleksnijim osobitostima od PDA (Raff, 2008).

Tablica 2. Karakteristike potrebne za evoluciju planktonske hrane e li inke (*eng. feeding larva*) iz benti kog bilateralnog organizma (Preuzeto iz Raff, 2008).

Karakteristike potrebne kod li inki	Adultne karakteristike koje nisu potrebne kod li inki
Cilijarne vrpce	Lokomotorni privjesci
Crijevo	Respiratorni sustav
Usta	Reproduktivni sustav
Jednostavni neuralni/senzorni sustav	Mozak

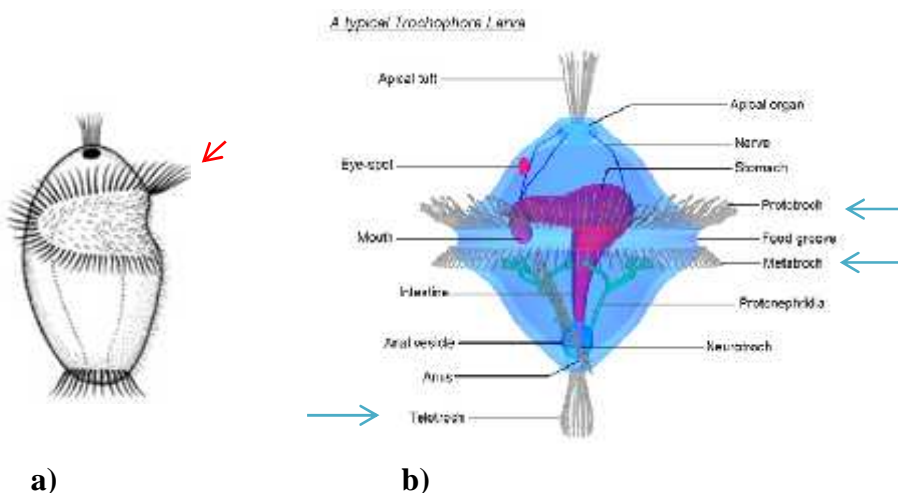
Odre enje osi tijela	Anteriorno-posteriorna os
Evolucija novih bilateralnih, adultnih inovacija	Sustav za ekskreciju
Metamorfoza	O i
	Optjecajni sustav
	Skelet

Sly i suradnici (2003) su predložili evoluciju liinke u direktno razvijaju em životnom ciklusu kroz uvo enje novih, neobaveznih struktura u ontogeniji, koje su zatim evoluirale do neophodnih liina kih struktura i kona no kroz pridruženje s drugim zna ajkama, do potpuno formirane liinke. Nielsen (2009) se referirao na Sly-ev rad iz 2003. Godine: „Ovo je potpuno bez razmatranja mogu ih adaptacijskih vrijednosti nekoliko evolucijskih koraka. Moglo bi se re i da interkalacija zahtijeva selektivnu ulogu za evoluiraju e liina ke gene prije nego što je nova planktotrofna liinka evoluirala, što zahtijeva selekciju za nove razvojne elemente prije nego što su oni potrebni.“ Dakle, upitno je zašto bi tokom dugotrajne i postepene evolucije liinke, organizmi uop e zadržali strukture koje su neobavezne, kada znamo da se u evoluciji konzerviraju samo one inovacije koje organizmima daju nekakvu prednost.

Liinke trohore imaju 3 vijenca trepetljiki na svome tijelu:

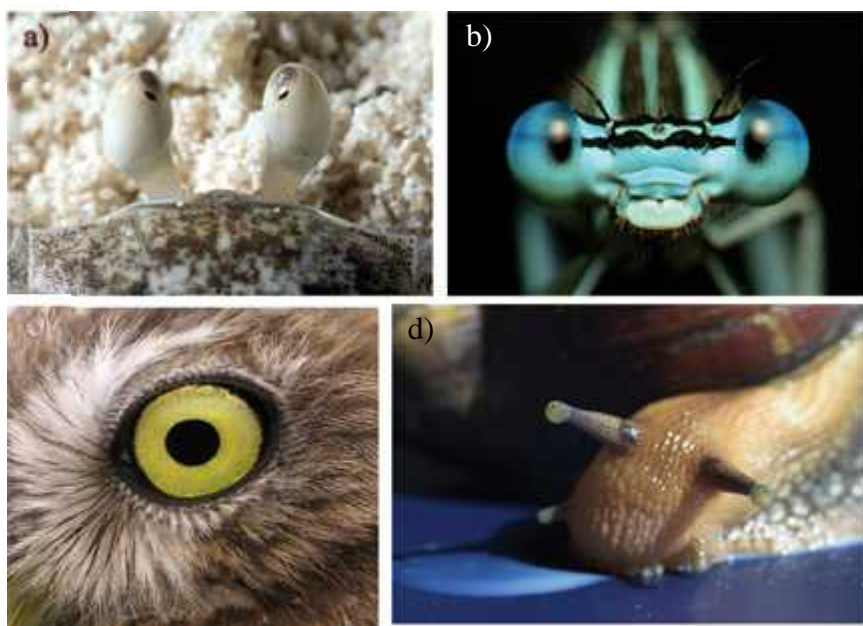
1. vijenac na sredini naziva se prototroh,
2. vijenac cilija na hiposferi (donjoj polovici) metatroh (naj eš e je prisutan), a
3. vijenac cilija telotroh se nalazi na vrhu donje polovice. (Matonikin, 1998)

„Trochaea“ hipoteza predlaže da su prototroh, metatroh i telotroh (Slika 6.-b, plave strelice) svih trohoforskih liinki nastale evolucijskim odvajanjem dijelova takozvane „okousne vrpce od sastavljenih cilija“ (eng. circumblastoporal band of compound cilia) ancestralne trochae (Nielsen, 2009) (Slika 6. a, crvena strelica).



Slika 6. Usporedba hipotetske trochae i trohore. a) Trochaea (Preuzeto i prilago eno iz Nielsen, 2009), b) Trohofora (Preuzeto s web stranice <http://cronodon.com/BioTech/Polychaete.html>).

S druge strane, interkalacijska hipoteza pretpostavlja da su li ina ke cilijarne vrpce evoluirale neovisno nekoliko puta (Rouse, 1999). in i se malo vjerojatnim da su regrutacijom razli itih gena nastale identi ne strukture poput cilijarnih vijenaca i apikalnog organa. „Larva-first“ tako er predvi a konvergencije, no produkti tih konvergencija su sli ni organi me u kojima postoje razlike u gra i, no obavljanje iste uloge je bio dovoljan razlog da ih se oslovi istim nazivom (Slika 7.). Tako na primjer segmentacija Arthropoda i Chordata nije ekvivalentna, kod Arthropoda je isklju ivo vanjska, kod Chordata je jednim dijelom vanjska (glava i prsa) dok je drugim dijelom unutrašnja (prsa i abdomen). Isto vrijedi i za evoluciju o iju ili ve spomenute evolucije krila kod kukaca, ptica i šišmiša (sisavci).



Slika 7. Primjeri razli itih tipova o iju a) sastavljene o i kod rakova (koljeno Arthropoda), b) sastavljene o i kod kukaca (koljeno Arthropoda), c) kamera tip o iju kod kralješnjaka (koljeno Chordata), d) jednostavne o i na ticalima kod puževi (koljeno Mollusca) (Preuzeto iz Arthur, 2011).

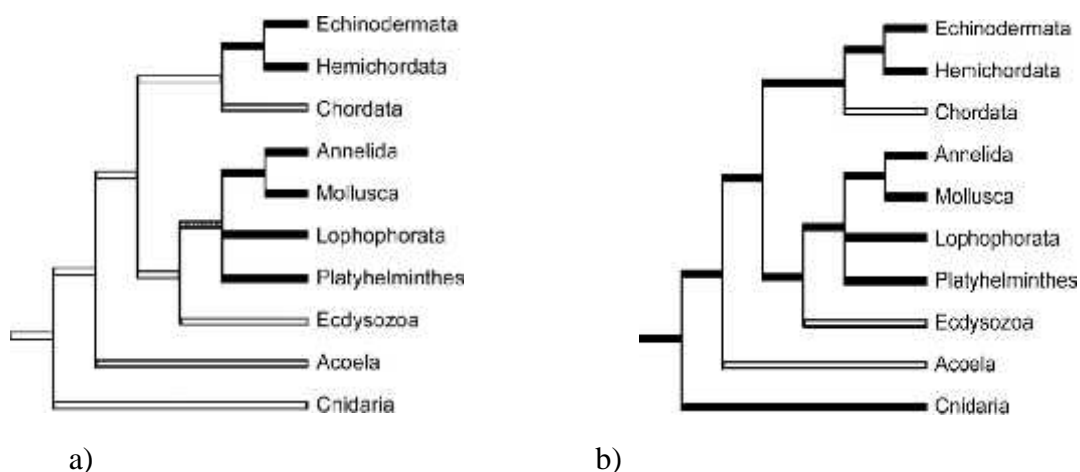
2.2.2. Filogenija

Predstavnici „adult-first“ tvrde da filogenetske analize razli itih skupina (*eng.* clade) bilateralnih višestani nih organizama nisu u skladu s „larva-first“ pretpostavkama. Naime, te analize navodno ne podržavaju filogeniju Metazoa u kojem su bazalne skupine organizmi koji se razvijaju indirektno (Dunn, 2008).

Jenner (2000) je testirao pojavljivanje indirektnog i direktnom razvoja koriste i filogenetsko stablo na kojemu su mapirana manja i ve a koljena. Na slici 8.-a) je prikazano stablo temeljeno na Jennerovim istraživanjima. Prema tom stablu pobornici interkalacijske hipoteze zaklju uju da su planktonske li inke nastale neovisno u Lophotrochozoa unutar skupine Protostomia i u posljednjem zajedni kom pretku Echinodermata i Hemichordata unutar skupine Deuterostomia. Echinodermata i Hemichordata dijele planktonsku li ina ku formu, dok razli ite skupine Lophotrochozoa (Mollusca, Anellida, Brachiopoda, Bryozoa,

Nemertea i Platyhelminthes) imaju morfološki različite liinke koje ukazuju na njihovo neovisnu evoluciju. (Rouse, 2000, Peterson, 2005). Druga protostomi na skupina Ecdysozoa koja uključuje Arthropoda, Nematoda Onychophora, Tardigrada, Kinorhyncha, Nematomorpha, Priapulida i Loricifera, deuterostomi na skupina Chordata i bazalna nebilateralna skupina Aceola se razvijaju isključivo direktno. Mapiranje prisutnosti planktonske liinke podržava direktan razvoj kao ishodišni kod bilateralnih organizama (Raff, 2008).

Raff (2008) na slici 8.-a prikazuje Cnidaria kao direktno razvijajuće organizme, no Nielsen modificiranjem istog stabla (Slika 8.-b) ukazuje na indirektan razvoj te skupine. Naime, mnogi autori tvrde da je liinka planula svih Cnidaria lecitotrofna (nema sposobnost hranjenja), međutim neke vrste Anthozoa (koralja) koji se danas smatraju predstavnicima ancestralnog životnog ciklusa Eumetazoa imaju planktotrofne liinke (Collins, 2002, Collins, 2006). Stoga, tvrdnja zagovornika interkalacijske hipoteze da su bazalne grane direktno razvijaju ih organizma je upitna, budući da koralji (bazalni razred unutar koljena Cnidaria) imaju liinku koja se može hraniti. Zagovornici „adult-first“ hipoteze rijetko raspravljaju o ranoj evoluciji Metazoa. No kad i to čine, zanemaruju dva najbazalnija koljena carstva Animalia, spužve. Liinke spužvi (parenhimule) ukazuju na postojanje indirektnog razvoja već kod najbazalnijih Metazoa, što nije prikazano na slici 8.-a.



Slika 8. Filogenetski prikaz razvojnih linija u glavnim granama Eumetazoa a) Iz perspektive „adult-first“, b) Iz perspektive „larva-first“ hipoteze. Prazne grane predstavljaju direktan razvoj, ispunjene grane indirektan razvoj, iscrtkana grana dvojbeni razvojni liniji. a) Shema napravljena prema predlošku Janner, 2000 (Preuzeto iz Raff, 2008), b) (Preuzeto iz Nielsen, 2009).

U filogeniji životinja postoje brojne sestrinske grupe koje se razlikuju u razvojnim linijama. Primjeri promjene indirektnog prema direktnom su dokumentirani u skupini Echinodermata (McEdward i Miner, 2001), a posebno je dobro istražena u sestrinskim grupama morskih ježinaca *Heliocidaris tuberculata* i *Heliocidaris erythrogramma* (Raff, 2008). Ova tranzicija je isto tako uočena u prelasku nekih morskih organizama na kopno, pri čemu je planktonska liinka zamijenjena embrionalnim razvojem (puževi). Općenito, ova tranziciju karakterizira gubitak struktura za hranjenje liinke, stjecanje više žumanjka u jajima i aktivno prebacivanje adultnih razvojnih programa prema ranim embriološkim stadijima

(Wray, 1996, Wilson i sur., 2005, Raff, 2008). Brojni primjeri tranzicija indirektnog u direktni razvojni na in potvr uje da je gubljenje struktura i prebacivanje razvojnih programa vjerojatnije nego evoluiranje novog razvojnog stadija li inke. Evolucija indirektnog od direktnog razvoja je isto mogu a i primjer nalazimo kod hemimetaboli nih kukaca, no njihova tranzicija se doga a postepeno tijekom dugog perioda i ne predstavlja u potpunosti protuprimjer sestrinskim vrstama *Helicodaris tuberculata* i *Helicodaris erythrogramma*. (Arenas-Mena, 2010). Prijedlog „adult-first“ hipoteze o potonjoj tranziciji kao doga aju koji je tokom evolucije Metazoa bio u estao, dovodi u sumnju nedostatak pravih dokaza.

Odvedeniji organizmi koji su ujedno i predatori poput hobotnica imaju manji reproduksijski potencijal, odnosno stvaraju manje potomaka. Njima nije povoljno imati u svojoj ontogeniji li ina ki stadij koji može biti potencijalni plijen drugim životinjama. Stoga, se može uo iti tendencija gubljenja li ina kog stadija kod takvih organizama. S druge strane, jednostavniji organizmi koji su obi no plijen drugim životinjama, imaju veliki reproduksijski potencijal, pa nema snažnog selektivnog pritiska za gubljenjem li ina kog stadija. Sesilni ili slabo pokretni organizmi tako er ne pokazuju tendenciju gubljenja li ina kog stadija, jer im je koristan za rasprostranjenje npr. spužve, žarnjaci, bodljikaši, plaštenjaci, školjke, vrp ari, mahovnjaci.

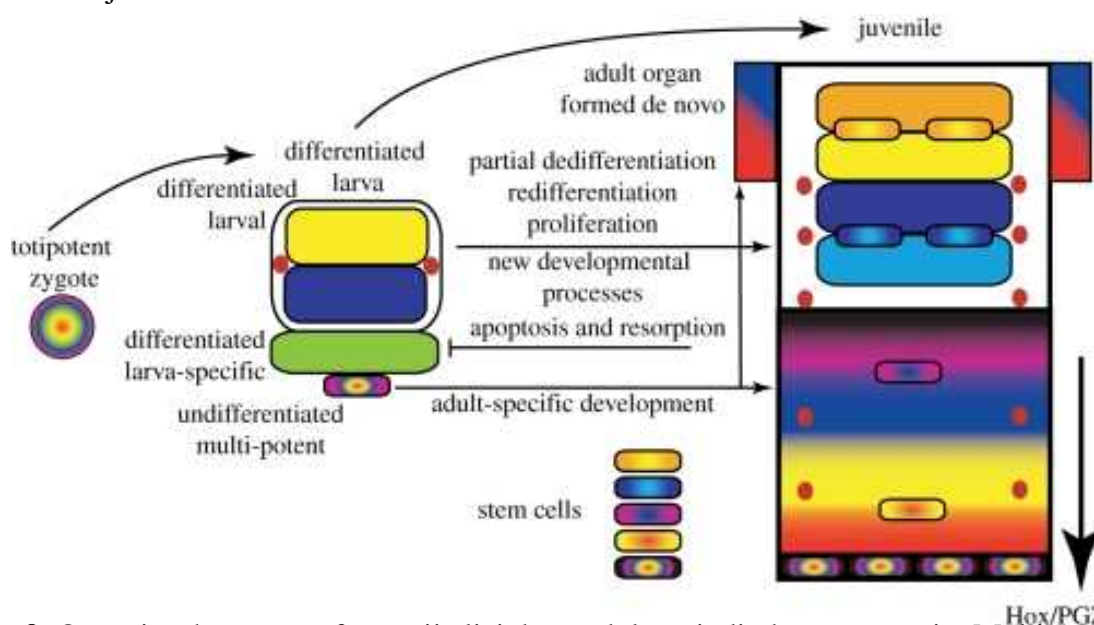
2.3. „Biphasic development-first“ hipoteza

Unato razli itim gledištima, u obje navedene hipoteze direktni razvoj je po etni razvojni na in iz kojeg je evoluirao indirektni razvoj. Interkalacijski scenarij predlaže da je originalni direktno razvijaju i organizam bio kompleksan, adultu sli an organizam, a terminalno dodavaju i model predlaže da je originalni direktno razvijaju i organizam bio jednostavan, li inki sli an organizam (Arenas-Mena, 2010).

Arenas-Mena predlaže tre u mogu nost u kojoj indirektni razvoj predstavlja glavni razvojni na in višestani nih organizama. On smatra da su li inke evoluirale zbog boljeg rasprostranjenja životinja koje su bile nepokretne i slabo pokretne i selekcije podloge na kojoj su te životinje egzistirale. Takvoj pretpostavci ide u prilog direktni razvojni na in pokretnih bazalnih skupina Metazoa (Ctenophora i Placozoa) (Rieger 1994, Arenas-Mena, 2008). Sumarno, Arenas-Mena smatra da su mati ni organizmi bazalnih koljena Metazoa (Polifera i Cnidaria) bili indirektno razvijaju i organizmi, a sva bilateralna koljena su evoluirala iz tih bazalnih indirektnih organizama (slika 12.-c), što ujedno zna i da se paralelno uz evoluciju adultnih oblika, odvijala i evolucija li inaka. Dakle, razli ita morfologija li inaka prostomi nih i deuterostomi nih organizama je produkt direktne evolucije, a ne konvergencija.

U indirektnom razvoju, embrij se mijenja do potpuno diferenciranog stadija li inke, dok nekoliko isklju ivih, adultnih, prekusorsnih stanica, kao što su one u posteriornoj zoni rasta (PGZ) mnogih bilateralnih organizama, ostaju multipotentne i nediferencirane (Arenas-Mena, 2010). Neke terminalno diferencirane stanice, kao što su stanice senzornog apikalnog organa i cilijarnih vrpce su isklju ivo li ina ke, ne doprinose adultima i prolaze apoptozu tijekom adultne transformacije (Yuan i sur., 2008.). Me utim, trenutna promatranja snažno sugeriraju da nisu sve adultne strukture izvedene od nediferenciranih prekursora i da je samo

udio terminalno diferenciranih, li ina kih stanica odba en tijekom metamorfoze. U mnogim indirektno razvijaju im organizmima veliki udio diferenciranih, li ina kih stanica doprinose adultnim sudbinama, stoga te stanice moraju reaktivirati proliferaciju i/ili se promijeniti prema udaljenim transkripcijskim stanjima (Slika 9.). Na primjer, u indirektnom razvoju Polychaeta (razred unutar koljena Anellida) ini se da postoji razvojni kontinuitet li ina kog crijeva u adultno crijevo, veliki udijeli ektoderma nisu odba eni tijekom metamorfoze, a adultni mozak ini se da se formira transformacijom li ina kog ektoderma, što skoro sigurno uklju uje transdiferencijaciju. Transdiferencijacija je parcijalna dediferencijacija i rediferencijacija prema novim ulogama. (Anderson, 1966, Nielsen, 2005a, Arenas-Mena i Wong 2007, Arenas-Mena i sur., 2007a). Li inke imaju dorzalne i ventralne aspekte, lijevu i desnu stranu, crijevo s ustima i anusom, osjetilne i ekskretorne organe itd. Mnoge od ovih struktura i op enita organizacija li inke je prera ena (*eng. recycle*) tijekom adultne transformacije.



Slika 9. Op enita shema transformacije li inka u adulta u indirektnom razvoju. Multipotentna zigota razvija se u diferenciranu li inku tijekom embriogeneze. Li ina ko specifi no tkivo (zeleno) je odba eno tijekom metamorfoze. Neki diferencirani li ina ki organi nastave proliferaciju i doprinose adultnoj transformaciji (žuto, plavo i crveno). Žuto i plavo tkivo djelomi no dediferencira i rediferancira. Bitne regije adulta izvedene iz multipotentnih prekursora koji ne dopriose diferenciranim li ina kim sudbinama (višebojne stanice). Održavanje i homeostaza adultnih organa je postignuta kombinacijom mati nih stanica i istih tih mehanizama dediferencijacije, pa zatim proliferacije koji izgra uju adulta. (Preuzeto iz Arena-Mena, 2010)

Zaklju ak koji izvodi autor ove hipoteze je da li ina ki i adultni stadij, bez obzira na ogromne morfološke razlike, ne trebamo promatrati kao dva odvojena entiteta. Indirektni razvoj je manje diskontinuiran nego što to predlažu „larva-first“ ili „adult-first“ hipoteze i vjerojatno je u skladu s postepenijim razvojnim i evolucijskim tranzicijama (Arenas-Mena, 2007). Ova hipoteza je jedina koja ne predvi a konvergencije u razvoju planova tijela, bilo li ina kih, bilo adultnih.

3. Karakteristike kambrijskih i neoproterozoi kih fosila

3.1. Kambrijska eksplozija

Sva koljena životinja koja su zbog strukturnih karakteristika sposobna ostaviti fosile, npr. Arthropoda, Mollusca, Chordata, Brachiopoda zastupljena su u fauni kambrija, dok niti jedno od njih nije nađeno prije početka tog perioda (prije 543 milijuna godina). Ova činjenica je vodila do pretpostavke da su koljena koja se ne fosiliziraju s lakoćom isto tako bila prisutna u kambriju, što je dovelo do ideje da su svi animalni planovi tijela naglo evoluirali u jednom kratkom periodu, koji je nazvan kambrijska eksplozija (Raff, 2008). U stratima stijenjena nisu pronađeni razvojni nizovi, već samo krajnji predstavnici razvojnih nizova određenih koljena, što ne daje nikakve informacije o ranoj evoluciji tih oblika životinja. Prema „larva-first“ hipotezi nedostatak razvojnih fosila, odnosno fosila organizama koji su bili ishodišni za pojedina koljena, sugerira da su ti organizmi bili osjetljivi na procese fosilizacije, što potvrđuje njihovu pretpostavku da je rana evolucija Metazoa bila sadržana u malim, planktonskim ili inkarnatnim organizmima, dok razvojni obrat primijećen u kambrijskim fosilima predstavlja paralelnu evoluciju novih planova tijela (Raff, 2008).

Predstavnici interkalacijske hipoteze tvrde da se evolucija tih oblika, iz kojih su zasebno evoluirala koljena, odvijala na razini kompleksnijih, bentičkih organizmima, što dovodi do pitanja: Zašto ti organizmi koji su građeni od sposobnih nisu ostavili fosile? Osim toga relativno kratki vremenski period (10 milijuna godina) u kojem se odvijala kambrijska evolucija svih postojećih planova tijela, također nije u skladu s interkalacijskim postepenim shvaćanjem rane evolucije Metazoa.

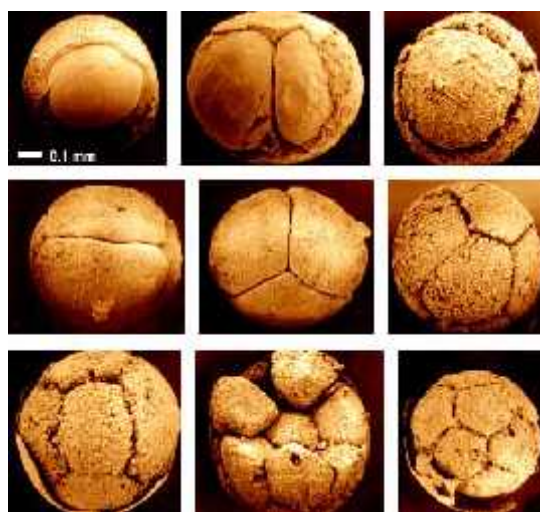
Početkom 90-ih godina 20. stoljeća kambrijska eksplozija je bila znanstveno prihvaćena dogma koja se odvijao kroz kratki period geološkog vremena, vjerojatno oko 10 milijuna godina (prije 540 do 530 milijuna godina). To mišljenje bilo je temeljeno na procjeni dostupnih fosilnih dokaza. Činilo se da pokazuju da je većina animalnih koljena nastala u iznenadnom evoluiranju i inovacija u to vrijeme. Molekularna istraživanja 90-tih godina, s druge strane napravila su vrlo različite procjene o vremenu divergencije protostomičnih i deuterostomičnih organizama, ali većina su bila puno starija nego procjene koje su napravljene prema istraživanju fosilnih zapisa. Umjesto vremena divergencije otprilike prije 540 milijuna godina, što bi bilo dosljedno s originalnom kambrijskom eksplozijom koja je temeljena na fosilima, neka molekularna istraživanja su je procijenila na više nego dvostruko, oko prije 1200 milijuna godina. Ove procjene su proizvele dilemu: trebaju li znanstvenici vjerovati fosilima ili DNA sekvencama? Iako ova rasprava nije završena, prednost se daje gledištu temeljenom na fosilima, zbog nedostataka metode molekularnog sata. (Arthur, 2011).

3.2. Potencijalni embriji iz neoproterozoika

Doushantuo formacija sastoji se od sekvence siliciklastičnih, fosfatnih i karbonatnih stijena u kojima su se nalazile posebno sačuvani primjeri algi, akritarha, embrija Metazoa i adulta spužvi i bilateralnih organizama. (Budd, 2008). Procijenjena starost navodnih fosila embrija Metazoa je 600 milijuna godina (Xiao i Knoll, 2000), što je razdoblje prije kambrija.

No, neki znanstvenici dovode u dvojbu pretpostavku o animalnom porijeklu ovih fosila, interpretiraju ih kao divovske sumporne bakterije, zbog njihove sličnosti s živim vrstama navedenih bakterija (Arthur, 2011) (Slika 10.).

Neki znanstvenici tvrde da interpretacija ovih fosila kao višestanih embrija ide u prilog interkalcijskoj tezi ukazuje da je direktni razvoj postojao čak 58 milijuna godina prije kambrijskog perioda što navodi na zaključak da je embriogeneza prethodila li ina koj fazi. No, ako se prisjetimo embriogeneze tipa 1 koja je dostatna za formiranje vrlo jednostavne hrane i liinke sposobne samostalno egzistirati u moru. Ako ovi fosili zbilja predstavljaju embrije višestanih organizama, moguće je da su se iz embrija trebali razviti li inkama slični organizmi.

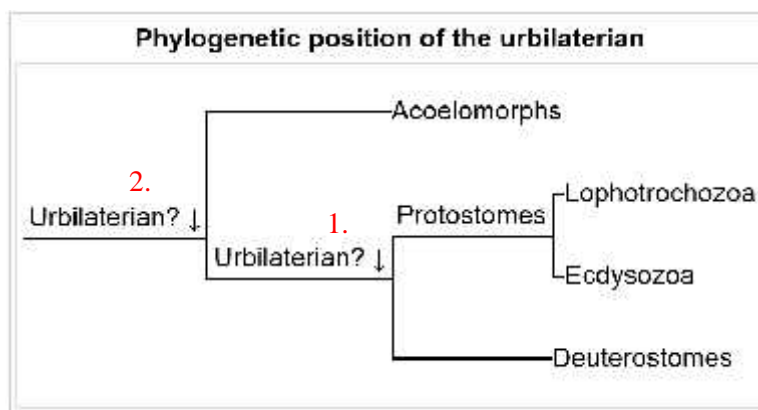


Slika 10. Embriji ili divovske sumporne bakterije iz Doushantuo formacije, veličine u rasponu 600-1100 μm . (Preuzeto s web stranice prof. Xiao S.: <http://www.paleo.geos.vt.edu/Shuhai/>).

4. Posljednji zajedni ki predak protostomi nih i deuterostomi nih organizama

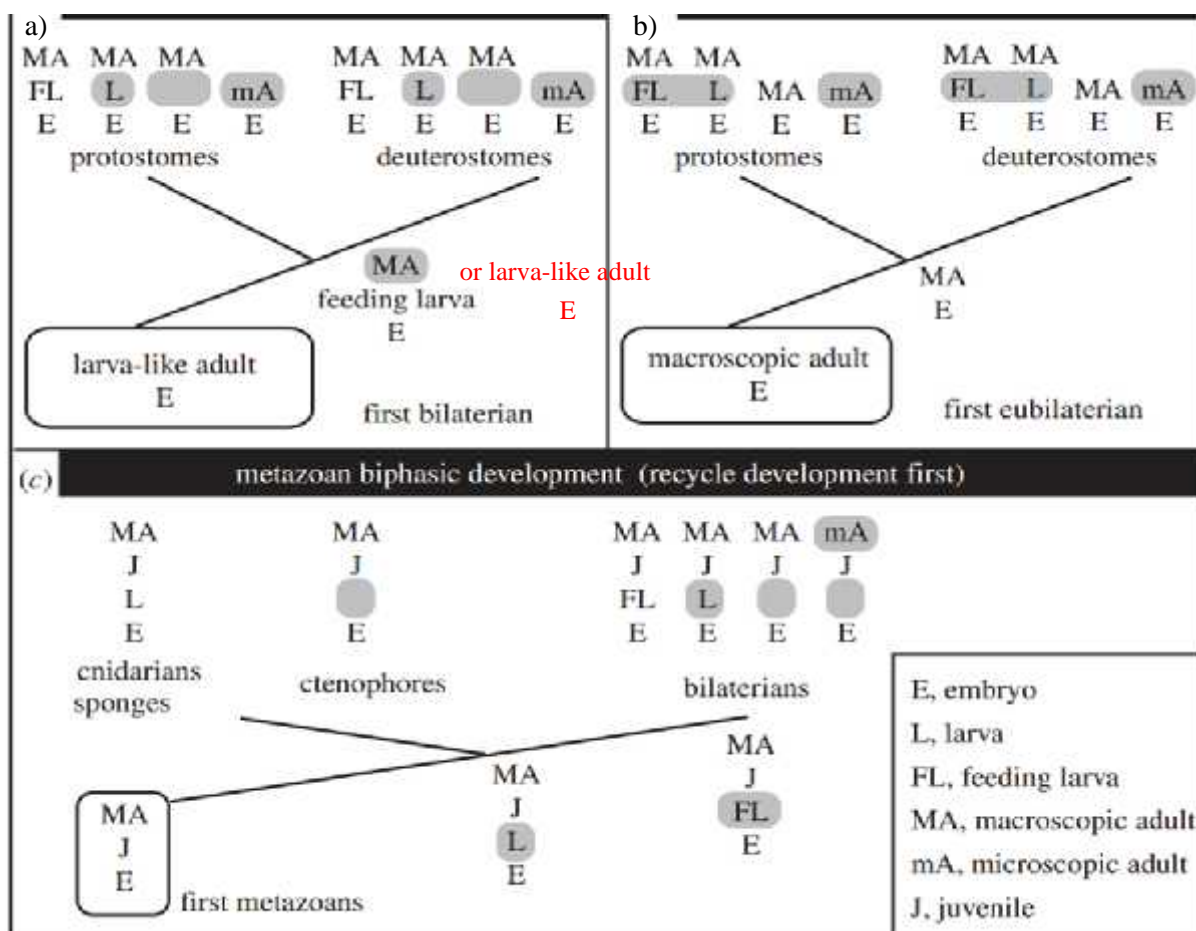
Uz nedoumice oko porijekla li inke postoje i one vezane za kompleksnost i razvojni na in (direktni ili indirektni) zajedni kog protostomi no-deuterostomi nog pretka (PDA, od *eng.* **protostome-deuterostome common ancestor**).

Na slici 11. može se vidjeti da postoje dvije interpretacije filogenetskog položaja zadnjeg zajedni kog pretka svih bilateralnih organizama, takozvanog urbilateralnog organizma (*eng.* **urbilaterian**). Prva (1.) interpretacija se poklapa s položajem PDA (PDA je isto što i urbilateralni organizam), dok druga (2.) predvi a da se zadnji zajedni ki predak svih bilateralnih organizama nalazi na filogenetskom voru iz kojeg se odvajaju dvije grane, jedna Acoelomorpha, druga Protostomia i Deuterostomia.



Slika 11. Filogenetski položaj urbilateralnog organizma još uvijek je dvojben (Preuzeto i prilago eno: <http://en.wikipedia.org/wiki/Urbilaterian>).

Glavna rasprava vodi se oko toga jesu li li inke nastale kao konvergentni evolucijski doga aji neovisno u protostomi nim i deuterostomi nim koljenima ili su izvedene iz li ina kog stadija koji je ve postojao u životnom ciklusu PDA (Arenas-Mena, 2010). Nielsen je uveo još jedan prijedlog u skladu s „trochaea“ hipotezom u kojem se razdioba izme u protostomi nih i deuterostomi nih organizama dogodila prije nego što je dodan njihov benti ki stadij (Page, 2009), stoga je PDA bio organizam sli an današnjim li inkama (Slika 12.).



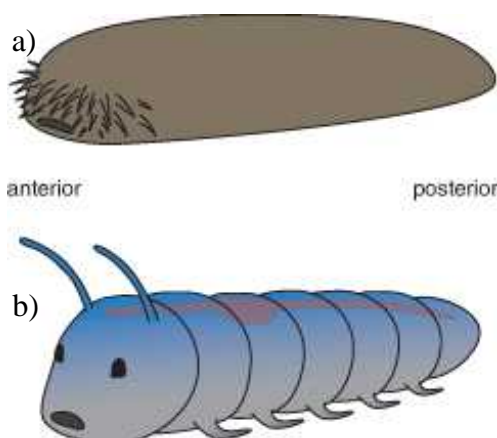
Slika 12. Različiti scenariji evolucije indirektnog razvoja bilateralnih organizama. Na sjecištu linija protostomi i deuterostomi životinja u skladu s „trochaea“ hipotezom trebao bi se nalaziti još i „larva-like adult“, crveno napisano (Preuzeto i prilagođeno iz Arenas-Mena, 2010).

„Adult-first“ hipoteza predlaže da su prvi bilateralni organizmi ili urbilateralni organizmi bili male, bentičke, bilateralno simetrične triploblastične životinje sliče po kompleksnosti živim Acoela (bescrijevcima), a potvrdu nalaze u molekularno filogenetskim istraživanjima koja predlažu da su Acoela najbazalniji živi i bilateralni organizmi (Slika 13.-a) (Ruiz, Trillo i sur. 2004, Sempre i sur. 2007), iako se o ovakvoj bazalnoj poziciji još raspravlja (Dunn i sur. 2008.).

Acoela su direktno razvijaju i organizmi koji sadrže anteriornu, središnju i posteriornu grupu Hox gena (Baguna i Riutrot, 2004, Ramachandra 2002). Ovo svojstvo je navelo predstavnike interkalacijske hipoteze na zaključak da su Acoela bili urbilateralni organizmi, a potomci koji su iz njih evoluirali naslijedili su ortologe tih gena. Ovakav prijedlog se čini vjerojatnijim nego prijedlog terminalno dodavajuće hipoteze da su dugi sljedovi Hox gena evolucijski konvergentni događaji.

Interkalacijska teza predlaže da je PDA bio vjerojatno nešto kompleksniji nego Acoela i da je sadržavao bazu genetičke „mašinerije“ za razvoj oka, nefridija, srca i drugih mezodermalnih tkiva (Erwin i Davidson, 2002, Erwin, 2006). PDA je bio bentički adultni organizam, stoga dugi sljedovi Hox gena nisu trebali evoluirati neovisno u protostomima i

deuterostomi nim organizmima, kao što je potrebno u Nielsenovoj („trochaea“) hipotezi (Page, 2009). Nadalje, oni smatraju da ove strukture nisu bile prisutne u izvedenom stanju kao što možemo vidjeti u živu im protostomi nim i deuterostomi nim organizmima. To znači da je evolucija bilateralnih značajki bila stupnjevita s nekim značajkama postignutim izmeću odvajanja od žarnjaka do acoelomorfnog stadija i daljnje stjecanje od acoelomorfnog stadija do PDA. Daljnja evolucija značajki koje karakteriziraju različite grupe pojedinih koljena predstavljao bi treći stadij evolucije značajki (Baguna i Riutort, 2004). S početkom kambrijskog širenja (*eng.* Cambrian radiation) evolucija različitih bilateralnih organizama se ubrzala i proizvela različite organizme iz kojih su evoluirala bilateralna koljena (Budd i Jensen, 2000).



Slika 13. Dva gledišta o gra i izvorišne bilateralno simetrične životinje ili urbilateralne životinje. a) Relativno jednostavna i nesegmentirana, kao današnji Acoela, b) kompleksna i segmentirana životinja (Preuzeto iz Arthur, 2011).

Među glavnim pobornicima „larva-first“ hipoteze ne postoji konsenzus o gra i razvoju na početku PDA. Pretpostavke „trochaea“ hipoteze su iznesene u podpoglavlju 2.1.2. (Slika 12.-a), crveno napisano). S druge strane, Davidson i suradnici (1995) te Peterson i suradnici (1997) smatraju da je PDA već bio indirektno razvijajuć i organizam s kompleksnim adultom i jednostavnim ličnim stadijem. Predstavnik „biphasic development-first“ hipoteze također zastupa potonju tvrdnju i zaključuje da su ličinke bilateralnih koljena sličele na one koje su evoluirale iz iste ishodišne ličinke (Arena-Mena, 2010).

5. Pridruživanje gena

Zagovornici „adult-first“ hipoteze kao jedan od najvećih nedostataka „larva-first“ hipoteze isti u potrebu za velikim brojem konvergentnih događaja, između ostalog masivne molekularne sličnosti u korištenju Hox i drugih regulatornih gena u navodno neovisnoj evoluciji određenih bilateralnih skupina s kompleksnim bentičkim planom tijela (Raff, 2008). Međutim, pridruživanje gena je jedan od pokazatelja da konvergencije i nisu tako nevjerojatni evolucijski događaji.

Koncept pridruživanja gena (*eng.* gene co-option) je jedan od najvažnijih koji je do sada nastao unutar grane Evo-Devo. Temeljna ideja je da geni koji imaju neku početnu, dobro uhodanu ulogu u razvoju, postaju razmješteni tijekom evolucijskog vremena, pritom stvaraju i novu ulogu, koja se već dodaje izvornoj ulozi umjesto da je zamjenjuje (Arthur, 2010).

Homologi organi su vrsti dokaz tijeka evolucije unutar potkoljena Vertebrata (npr. prednji udovi vodozemaca, gmazova i sisavaca). Međutim, takav obrazac evolucije neki znanstvenici pokušavaju primijeniti na evoluciju bilateralnih adultih planova tijela, što možda nije ispravan model za ranu evoluciju Metazoa. Primjeri pridruživanja gena koje nalazimo kod evolucije oči i segmentacije, možda su dokaz da se evolucija složenih bilateralnih planova tijela odvijala paralelno iz različitih jednostavnijih organizama njihovim prelaskom u novu ekološku nišu (bentos).

5.1. Pridruživanje gena u evoluciji segmenata

Arthropoda i Chordata imaju sličnosti u genima koji su temelj njihove segmentacije. Posljednji zajednički predak, urbilateralni organizam, možda je imao barem rudimentarni oblik segmentacije. U tom slučaju segmenti od Arthropoda i Chordata su homologni. Urbilateralni organizam je možda bio potpuno nesegmentiran, što znači da su segmenti Arthropoda i Chordata evoluirali neovisno, ali da svaki od ovih neovisnih nastanaka segmenata je temeljen na pridruživanju nekih istih gena, kao što su *notch*, *delta* i *engrailed*.

Engrailed gen kodira za transkripcijski faktor koji sadrži homeodomen. Prvo je bio identificiran u vinskoj mušici u kojoj ima ključnu ulogu u razvoju segmenata i udova (Lawrence 1982 and 1986, Kornberg, 1981, Morata, 1975). U kasnijim istraživanjima, pronađen je u svim bilateralnim životinjama (Webster, 1992, Gilbert, 2002).

Evolucijski konzerviran Notch signalni put ima važnu ulogu u regulaciji stanih proliferacije, diferencijacije i apoptoze. Nastao je evolucijom višestanih organizama i potrebom za jukstrakrinim staničnim komunikacijama radi usklađivanja razvoja (Artavanis-Tsakonas, 1999). Interakcija između Notch receptora i liganda između susjednih stanica aktivira Notch signalni put (Artavanis-Tsakonas, 1999, Kopan, 2009, Radtke, 2003, Pannuti, 2010). Ovaj signalni put ima ključnu ulogu u koordiniranju segmentacije somita kod miša. Delta je vrsta liganda koji sudjeluje u Notch signalnom putu (wikipedia).

Homolozi gena *engrailed* su pronađeni u svim istraživanim bilateralnim skupinama, uključujući i Nematoda, Mollusca i Echinodermata. Nematoda i Echinodermata ne pokazuju znakove segmentacije, dok neki članovi skupine Mollusca imaju nekoliko segmentirano

ponovljenih struktura. U sve tri grupe *engrailed* je eksprimiran u razvoju živ anog sustava (Jacobs, 2000).

Homolog *engrailed* gena je također poznat i u nebilateralnoj skupini Cnidaria. Stoga se ini vjerojatnim da je izvorni *engrailed* gen nastao prije divergencije Cnidaria i urbilateralnih organizama, možda kao rezultat duplikacije i divergencije srodnog homeobox gena. Izvorna funkcija možda je bila u razvoju živ anog sustava, budu i da je to uloga koja se nastavlja u mnogim bilateralnim skupinama i danas. *Engrailed* gen je potom tijekom evolucije bio pridružen kao segmentacijski gen ili jednom u segmentiranom urbilateralnom organizmu ili vjerojatnije više puta u matini linijama koje vode svakom koljenu za koje je karakterističan segmentirani plan tijela. U nekim ograničenim skupinama ovaj gen je pridružen za druge funkcije kao uloga u stvaranju ljuštura kod Mollusca. Osim toga, gen *engrailed* se duplicirao u nekim linijama, uključujući i *Drosophila melanogaster*, u kojoj je gen *invected* paralog gena *engrailed* (Arthur, 2011). Gen *invected* se eksprimira zajedno s genom *engrailed* s kojim dijeli regulatornu DNA (Gustavson, 1996).

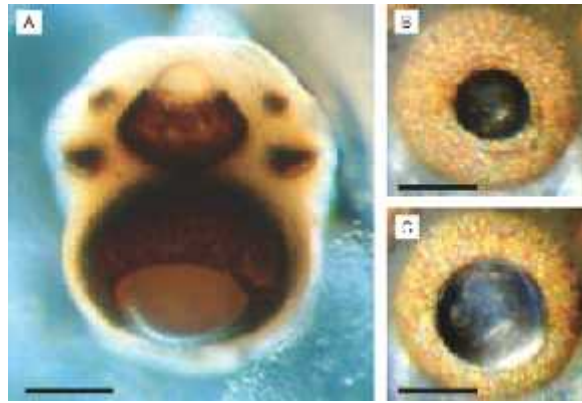
5.2. Pridruživanje gena u evoluciji o iju

U carstvu Animalia postoje brojne verzije organa osjetljivih na svjetlo, koje svodimo na isti pojam o i, iako su građom međusobno poprilično različite (jednostavne, sastavljene ili kameralni tip o iju, slika 7.). Organizmi koji nemaju o i su bazalne skupine Metazoa kao Polifera, Placozoa i većina Cnidaria, dok kod odvedenije skupine Mesozoa (iz koljena Bilateria) postoji mogućnost da je nedostatak o iju posljedica degradacije. Ključni gen u stvaranju o iju je član genske obitelji Pax, gen *pax6*.

Transkripcijski faktor kojeg kodira gen *pax6* je važan u širokom spektru procesa, od razvoja i poticanjem morfogeneze epitelnog tkiva do specifikacije i diferencijacije živanih stanica. Pax6 je potreban za pokretanje razvojnih putova, razvoja epitelnog tkiva, aktivacije tkivno specifičnih gena i interakcija s drugim regulatornim putevima. (Shaman, 2012).

Slično kao i kod *engrailed* gena, Pax obitelj gena je prisutna u širokom rasponu taksona. Članovi ove obitelji su prisutni u bazalnim životinjama, uključujući i životinje bez o iju kao što su Anthozoa (koralji) (Catmull i sur., 2000). Postavlja se pitanje je li ovo slučaj jednog pridruživanja gena ili su se dogodila dva ili više neovisna pridruživanja?

Odgovor na ovo pitanje može se naći kod koljena Cnidaria, koji uključuje razrede Anthozoa, Hydrozoa, Scyphozoa i Cubozoa (najodvedenija skupina unutar koljena Cnidaria). Cubozoa imaju prilično napredne o i koje o i to tvore sliku, što je neobično jer nemaju mozak za procesiranje slika (Slika 14.), dok najbazalniji žive i žarnjaci, bilo da su oni koralji ili članovi skupine Hydrozoa nemaju o i. Na temelju ovih činjenica možemo zaključiti da je Pax skupina gena u stvaranju o iju bila pridružena najmanje dva puta, dakle kod evolucije o iju u Cubozoa i urbilateralnog organizma. No, postoji mogućnost da urbilateralni organizam nije imao o i, već da su pridruženjem *pax6* gena o i nastale, neovisno u svakom koljenu skupine Bilateria. (Arthur, 2011)



Slika 14. Kompleksne oči (A,B,C) Cubozoa, koje predstavljaju paradoks zato što se čini da su sposobne stvarati slike, iako ove životinje nemaju mozak za procesiranje slika (Preuzeto iz Nilsson, 2005)

6. Rasprava i zaključci

U ovom radu stavila sam naglasak na „larva-first“ hipotezu zato što se slažem s njihovim pretpostavkama, no unatoč tome, nastojala sam objektivno prikazati i druge dvije hipoteze.

Među znanstvenicima je prihvaćena „adult-first“ hipoteza zato što, u skladu s principima parsimonije, sekundarne neovisne evolucije jednostavnih linki smatraju vjerojatnijima nego sekundarne neovisne evolucije kompleksnijih bilateralnih organizama. Također, masivne konvergencije regulatornih gena koje su terminalno dodavajući im težu predviđene, čine se malo vjerojatnim, što me navelo na analiziranje pojave genskih pridruživanja. Ključno je da ona ostavlja mogućnost da je ishodišni organizam bilateralne monofiletske skupine bio vrlo jednostavan organizam, koji nije trebao biti niti segmentiran niti je trebao imati razvijene oči (iako je i mogao imati jednostavne oči) i možda nije trebao imati još mnogo drugih komponenata. Drugim riječima, to ostavlja mogućnost da je taj organizam bio sličan današnjim lincikama, odnosno da su današnji linci stadiji u ontogenijama nekih organizama rekapitulacija organizama koji su živjeli prije kambrija i bili ishodišta za sva današnja koljena, a da se kasnijom zasebnom evolucijom u svakom koljenu pridruživanjem istih gena došlo do stvaranja sličnih struktura poput segmenata i oči.

Interkalacijska hipoteza predlaže da je divergencija koljena potekla od organizama malo kompleksnijih nego današnji Acoela. Ovaj prijedlog je neprecizan jer postoje više predodžbi o tome što znači „malo kompleksniji“. Isto tako, pojam kompleksnost nije jednoznačan i razmatra se na više razina (broj različitih stanica, interakcije među stanicama, broj tjelesnih privjesaka i sl.). Stoga, nije u potpunosti jasno na što su to no mislili zagovornici interkalacijske hipoteze ovom tvrdnjom, a takve neodređene prijedloge je teško analizirati.

Sasvim je jasno da je nemoguć nastanak novog koljena recimo iz neke vrste kornjača, jer da bi iz nekog gmaza nastalo novo koljeno, on bi trebao izgubiti sve karakteristike koje ga svrstavaju u koljeno Chordata i poprimiti neke nove, jedinstvene karakteristike. Možemo ustvrditi da su oni previše specifični i odvedeni organizmi. S druge strane, pripadnici skupine Acoela su po kompleksnosti puno jednostavniji organizmi. Međutim, oni također imaju neka specifična obilježja, npr. oni nemaju endodermalni epitel, nego sincicijalno crijevo, a blastopore ne korespondira ustima. Dakle, nalazimo karakteristike specifične samo za njih, što je očito produkt zasebne evolucije unutar njihove specifične grane. Jasno je da su predstavnici interkalacijske hipoteze naveli samo njihovu kompleksnost ekvivalentnu kompleksnosti PDA. Sukladno tome moramo se zapitati kakvi su organizmi bili ti PDA, malo kompleksniji od Acoela, bez njihovih specifičnih obilježja? Čini mi se da upravo linci stadiji odgovaraju tom opisu. Naime, svojstveno je lincikama različitih koljena da one nemaju specifična obilježja koja karakteriziraju koljena. Na primjer, tri različita koljena Anellida, Mollusca i Nemertea međusobno izrazito različitim adultima, imaju istu vrstu linki (trohohorskog tipa).

Interkalacijska hipoteza pretpostavlja da su organizmi koji su posljednji zajednički preci svih koljena bili kompleksni bentički organizmi. Čini mi se da su bentički organizmi i bez specifičnih obilježja pojedinog koljena možda već prespecifični da bili dio te rane

evolucije. Naime, benti ki organizmi trebaju imati nakupinu osjetilnih stanica na anteriornom dijelu tijela, koji prvi dolazi u kontakt s okolišem, kako bi izbjegli prepreke na morskome dnu (Slika 15.). Definirano tijelo na anteriornu i posteriornu os s osjetilima i ganglijima na prednjem dijelu ve predstavlja specifi nost koju nemaju neke skupine bilateralnih organizama npr. mahovnjaci, bodljikaši, plaštenjaci i stapko ašci (Entoprocta) (Slika 16.).



Slika 15. Predstavnik skupine Acoela (Preuzeto s web stranice <http://en.wikipedia.org/wiki/Acoela>).



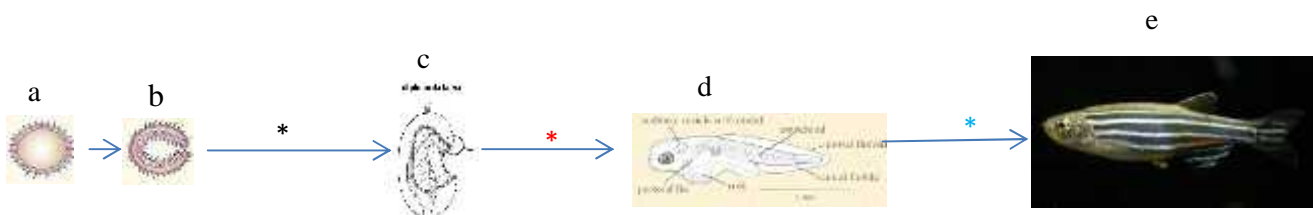
Slika 16. Razli iti predstavnici bilateralne monofiletske skupine koji su navodno nastali iz bilateralnog pretka a) zvjezda a (koljeno Echinodermata), (Preuzeto s web stranice: [http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Starfish_02_\(paulshaffner\).jpg](http://commons.wikimedia.org/wiki/File:Starfish_02_(paulshaffner).jpg)), b) Bryozoa (koljeno Lophotrochozoa), (Preuzeto s web stranice: <http://www.starfish.ch/c-invertebrates/bryozoans.html>), c) Tunicata (koljeno Chordata), (Preuzeto s web stranice: <http://www.panoramio.com/photo/18844405>), d) Entoprocta (nadkoljeno Lophotrochozoa) (Preuzeto s web stranice <http://www.cryptosula.nl/native%20Entoprocta.html>)

Sve navedene pretpostavke vode do zaklju ka da su svi današnji organizmi, ak i najjednostavniji Placozoa prespecifi ni da bi postali temelj za novo koljeno. U prilog toj pretpostavci ide injenica da je u fauni kambrija bilo prisutno ve ina današnjih koljena koja se

fosiliziraju s lako om uz pretpostavku da su koljena koja se ne fosiliziraju s lako om tako er tada bila prisutna. Iz toga se može izvesti da poslije tog perioda nije nastalo niti jedno novo koljeno. Protuargument da u vrijeme kad su divergirala koljena nije bilo predatorstva, a cijeli oceani su bili na raspolaganju samo tadašnjim jednostavnim bi ima poput Acoela tako er je vrijedan razmatranja. No tijekom 5 velikih izumiranja, pretpostavljam da je ostavljeno dovoljno prostora za mogu i nastanak novog koljena, što se, ako su navedene pretpostavke to ne, nije dogodilo.

Pitam se ako je terminalna hipoteza ispravna, vodi li ona do zaklju ka da je bilateralna simetri nost nastala puno puta tijekom evolucije kao prilagodba na pelagi ki na in života, isto kao što je radijalna simetrija nastala više puta neovisno kao prilagodba na sesilni ili miruju i benti ki na in života (Cnidaria, Echinodermata)? Tako er, je li dodavanje terminalnog benti kog stadija bilo u estalije nego što to predlaže Nielsen, odnosno je li svako koljeno zasebno evoluiralo iz posebnog li inki sli nog organizma (Trochozoa: Mollusca, Müllerova li inka: Platyhelminthes itd.), te je li se divergencija unutar nekih koljena prije dodavanja benti kog stadija odvijala na razini nešto složenijih organizama (Veliger: Mollusca, nauplius: Arthropoda itd.), od kojih su neki prelaskom u novu ekološku nišu, bentos, regrutirali istu skupinu gena (Hox) za razvijanje kompleksnijeg, specifi nog plana tijela?

Uzmimo da je ispravna pretpostavka da se svako koljeno razvilo iz mati nih organizama koji su bili jednostavni, nespecifi ni, li inkama sli ni organizmi. Uz potonju pretpostavku i rekapitulacijsku hipotezu evolucija razvojne linije *Danio rerio* se može rekonstruirati na na in koji je prikazan na slici 17. Usporedbom prikazane evolucije na slici 17. i tijeka ontogenije ove vrste možemo zaklju iti da se u ontogeniji uglavnom rekapituliraju prelasci na više razine kompleksnosti (gastrea u li inki sli an organizam itd.). Rekapitulacija filogenije kroz ontogeniju bi po svemu sude i trebala biti preciznije definirana kao rekapitulacija prelaska na novu razinu kompleksnosti koja se odvijala tijekom filogenije. No, kod nekih organizama potpunu rekapitulaciju pove anja kompleksnosti je u nekim stadijima zamijenila embriogeneza. To se dogodilo i kod riba, kojima u ontogeniji nedostaju deuterostomi ne li inke, a umjesto njih se razvijaju embriji.



Slika 17. Simplificiran prikaz evolucije razvojne linije *Danio rerio*. Blastea (a) je evoluirala u gastreu (b). Gastrea je evoluirala u prvi li inki sli an organizam, iz kojeg su potom divergirale razne vrste li inki sli nih organizama (crna zvijezdica), a iz jednog takvog organizma evoluirao je deuterostomi ni li inki sli an organizam (dipleura) (c). Iz dipleure je evoluirao sekundarni chordatnoj li inki sli an organizam (crvena zvijezdica) iz kojeg je potom evoluirao vertebratnoj li inki sli an organizam (d). Iz tog li inki sli nog organizma su evoluirale prve ribe, koje su divergirale (plava zvijezdica), a iz jedne vrste je evoluirala *Danio rerio* (e). Napomena: organizmi na slici nisu u realnim proporcijama (Preuzeto i prilago eno: http://www.nature.com/nrm/journal/v4/n11/fig_tab/nrm1244_F2.html).

<http://science.kennesaw.edu/~jdirnber/InvertZoo/LecIntro/Dipleurula%20larval%20comparis on.jpg>, <http://aqua-culture.blogspot.com/2007/03/stages-of-fish-development.html>, <http://www.aquarioepeixes.com.br/peixesornamentais/aquario-de-agua-doce/paulistinha-brachydanio-rerio-danio-rerio/>)

Na slici 18. možemo vidjeti relativnu gensku ekspresiju svih filostrata tijekom ontogenije *Danio rerio*. Dio gena filostrata Metazoa omogu ili su prvim kolonijalnim oblicima specijalizaciju stanica na spolne stanice, stanice za pokretanje i hranjenje. Ako pratimo ekspresiju gena iz tog filostrata tijekom ontogenije možemo uo iti sljede e: visoka ekspresija ovog gena u zigoti upu uje na mogu u ulogu tih gena u stvaranju specifi nih stani nih linija, od kojih svaka ima karakteristi ni metilacijski obrazac, odnosno gensku ekspresiju, ime se stanice specijaliziraju na izvršavanje odre ene funkcije (spolne i cilijarne) (embriogeneza tipa 1). Crna strelica na grafu B pokazuje nagli porast u ekspresiji gena ovog filostrata u blastuli s vrhuncem ekspresije u stadiju gastrule. Ovo može biti pokazatelj da su geni klju ni za stvaranje specijaliziranih stanica ponovno regrutirani u gastreji, u kojoj su se potom razvile nove specijalizirane stanice koje su doprinijele evoluiranju novog stadija, li inki sli nog organizama.

Geni filostrata Bilateria direktno su odgovorni za stvaranje li inki sli nog organizma (uz gene filostrata Metazoa). Na grafu B, crvena strelica ozna ava nagli porast gena tog filostrata u stadiju gastrule, koji se potom naglo prekida. Kao što je ve u tekstu navedeno, deuterostomi na li inka je kod riba zamijenjena embriogenezom, pa je prekomjerna ekspresija gena ovog filostrata postala nepotrebna, što je uzorkovalo nagli prekid porasta ekspresije. Pretpostavljam da ti geni kodiraju za proteinske produkte važne u izgradnju osnovnih li ina kih struktura koje su esencijalne za njeno preživljavanje u okolišu (živ ane vrpce, apikalni organ itd.), a isti geni su o ito bili regrutirani i za evoluciju sekundarnog li inki sli nog organizma i adulta (zelena strelica, porast ekspresije).

Geni iz filostrata Deuterostomia su bili važni za prilagodbu protostomi nog li inki sli nog organizma na tada novu nišu, bentos, pri emu je evoluirao deuterostomi ni li inki sli an organizam. Iz toga razloga je visoka ekspresija gena filostrata Deuterostomia u zigoti, blastuli i gastruli, stadijima koji su prethodili stvaranju nekadašnje deuterostomi ne li inke. No, valja uo iti da ovdje nije rije o evoluiranju kompleksnijeg stadija, ve stadija iste kompleksnosti s nekim modifikacijama.

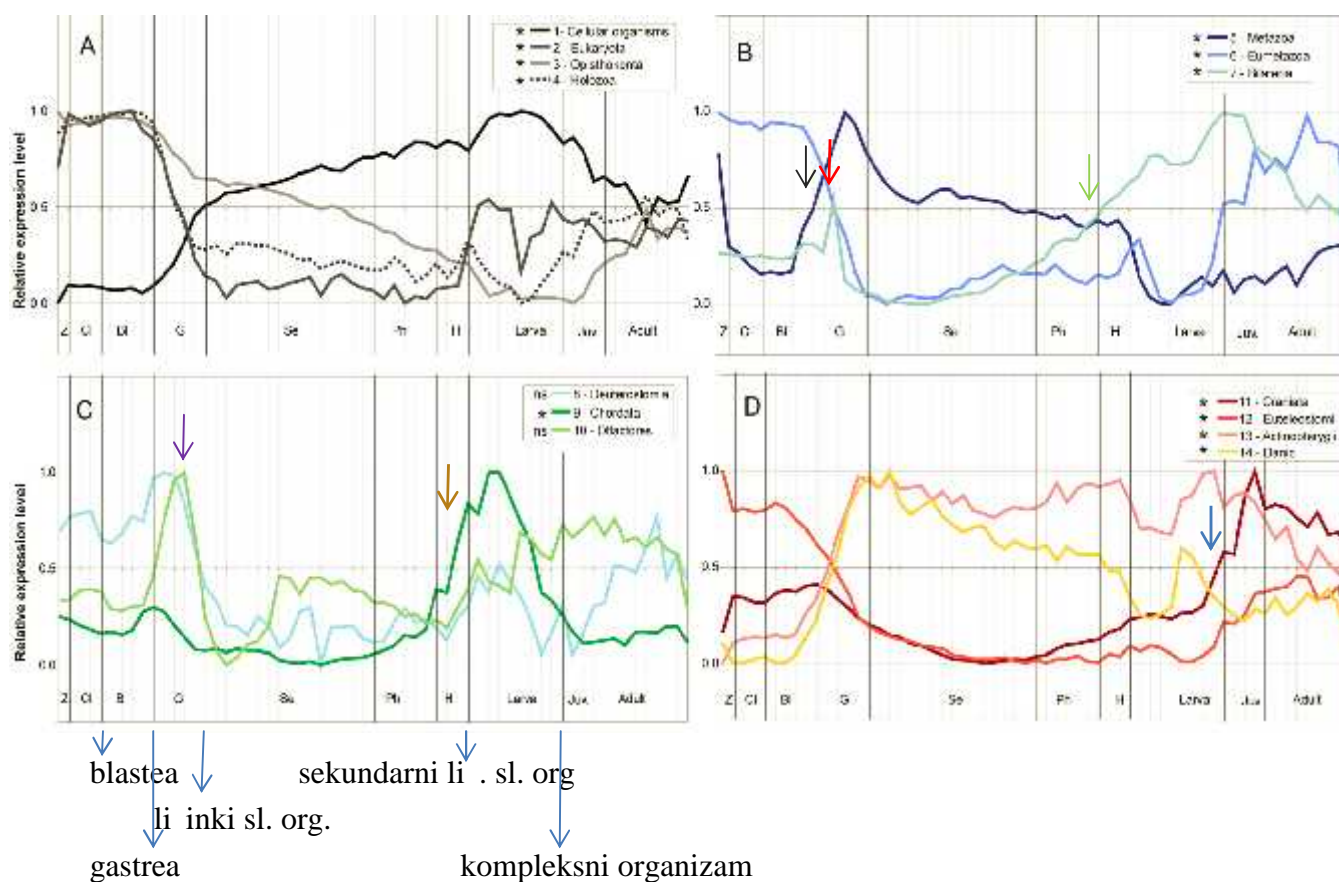
Porast ekspresije gena filostrata Chodata (svitkovci) na grafu C pred kraj Ph faze i tokom faze H s vrhuncem u li ina koj fazi (sme a strelica), mogao bi upu ivati da su geni ovog filostrata odgovorni za evoluiranje sekundarnog li inki sli nog organizma. Ovaj ekspresijski porast je u skladu s prijedlogom da je zadnji zajedni ki predak Chordata bio sekundarnoj li inki sli an organizam.

Geni filostrata Olfactores (Tunicata i Vertebrata) su prekomjerno eksprimirani u fazi gastrule i u skladu s Van Baer-ovom tvrdnjom: „Op enite zna ajke velikih skupina životinja pojavljuju se ranije u embriju nego posebne zna ajke.“, možemo ustvrditi da je prekomjerna ekspresija ovih gena u fazi gastrule omogu ila da se ve u embrijima segmentacijske faze (Se) pojavljuju zna ajke karakteristi ne za Tunicata i Vertebrata (škržno ždrijelo).

I kona no, nagli porast ekspresije gena iz filostrata Craniata (organizmi s kosti i hrskavicom) s po etkom u Se faze (plava strelica) i s vrhuncem u juvenilnoj fazi upu uje da

su geni tog filostrata bili odgovorni za formiranje kompleksnih adultnih organizma, tj. prvih primitivnih kralješnjaka (sljepulja, paklara).

Predstavnici interkalacijske hipoteze predlažu da su li inke stadiji umetnuti u ontogeniju kompleksnijih organizama. U ovom specifičnom slučaju, to bi značilo da je posljednji zajednički predak riba evoluirao prije nastanka njegove liinke. Stoga, neposredno prije razvijanja liinke u ontogeniji *Danio rerio* trebao bi postojati nagli ekspresijski porast gena filostrata Craniata, koji bi, sukladno pretpostavkama interkalacijske hipoteze, trebali biti regrutirani u ontogeniji radi stvaranja novog razvojnog stadija. Međutim, na grafu D, možemo uočiti da se to ne događa.



Slika 18. Relativna ekspresija gena za svaki filostratum ontogenije vrste *Danio rerio*. Ispod grafa C predstavljeni su hipotetski organizmi kroz koje se odvijala evolucija razvojne linije *Danio rerio*, svi osim liinke sliče nog organizma se rekapituliraju u ontogeniji ove vrste.

(kratice: Z-zigota, Cl-djeljenje zigote, Bl-blastula, G-gastrula, Se-segmentacija, Ph-faringula, H-izljevanje), (Preuzeto i preuređeno iz Domazet-Lošo and Tautz, 2010) .

Ukoliko bi se napravila filostratigrafska analiza neke vrste puža koji ima trohoforu (jednostavnu), veliger (složeniju) liinku i adultni stadij, genska ekspresija određenih filostrata neposredno prije samog nastanka trohofore i tokom njezine egzistencije možda bi mogla konačno razriješiti dvojbu jesu li liinke umetnute u ontogeniju ili su im terminalno dodani bentički stadiji. Interkalacijski predstavnici smatraju da su za umetanje liinke u ontogeniju direktno razvijaju ih organizama regrutirani geni koji su nastali tokom zasebne

evolucije u svim koljenima. Dakle, ukoliko bi geni koji spadaju u filostrat Mollusca bili prekomjerno eksprimirani tijekom ontogenijskog razvijanja li ina kog stadija mogli bismo ustvrditi da je riječ o umetanju tog stadija u ontogeniju organizama. S druge strane, iz perspektive „larva-first“ gledišta, nastanak gena iz filostrata Bilateria odgovara evolucijskom nastanku li inkama sli njih organizama, pa ako se tijekom razvijanja liinke u ontogeniji tog puža pojavi ekspresijski vrhunac gena iz tog filostrata to bi bio snažan dokaz da je nastanak tih gena (de novo ili duplikacijama) odgovoran za stvaranje novih organa (li inakih) koji su potom generalno gledaju i evoluirali novi stadij. Isto tako, u tom stadiju ontogenije bismo mogli otkrivati i prekomjernu ekspresiju gena iz starijih filostrata npr. Metazoa, jer postoji mogućnost da su oni regrutirani za nastanak liinke sli njih organizama, dok su mlađi i filostrati (npr. Mollusca) formirani tek poslije nastanka liinke sli njih organizama.

7. Literatura

Anderson D.T. (1966) The comparative embryology of the Polychaeta. *Acta Zool.* 47:1–42.

Arenas-Mena C. (2010) Indirect development, transdifferentiation and the macroregulatory evolution of metazoans. *Phil. Trans. R. Soc. B.* 365: 653–669.

Arenas-Mena C. (2008) The transcription factors HeBlimp and HeT-Brain of an indirectly developing polychaete suggest ancestral endodermal, gastrulation, and sensory cell-type specification roles. *J. Exp. Zool. (Mol. Dev. Evol.)* 310B: 567–576.

Arenas-Mena C., Suk-Ying Wong K., Arandi Foroshani N. R. (2007). Histone H2A.Z expression in two indirectly developing marine invertebrates correlates with undifferentiated and multipotent cells. *Evol. Dev.* 9:231–243.

Arenas-Mena C., Wong Y. (2007) HeOtx expression in an indirectly developing polychaete correlates with gastrulation by invagination. *Dev. Genes Evol.* 217:373–384.

Artavanis-Tsakonas S., Rand M.D., Lake R.J. (1999) Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science* 284:770–776.

Arthur W. (2011) *Evolution: A developmental approach*, Galway, Wiley-Blackwell

von Baer K.E. (1828) *Über Entwicklungsgeschichte der Thieren: Beobachtung und Reflexion*, Bornträger, Königsberg.

Baguña J., Riutort M. (2004) The dawn of bilaterian animals: the case of acoelomorph flatworms. *BioEssays* 26:1046–1057.

Budd G.E. (2008) The earliest fossil record of the animals and its significance. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2008;363:1425–34.

Budd G.E, Jensen S.A. (2000) Critical reappraisal of the fossil record of the bilaterian phyla. *Biol. Rev.* 75:253–295.

Cameron R.A., Peterson K.J., Davidson E.H. (1998). Developmental gene regulation and the evolution of large animal body plans. *Amer.Zool.* 38:609–620.

Carroll S.B. (2005) *Endless forms most beautiful*, W.W. Norton & Company

Catmull J. *et al* (2000) *Pax-6* origin-implications from the structure of two coral *Pax* genes. *Dev. Genes. Evol.* 208: 352-356.

Collins A.G., Schuchert P., Marques A.C., Jankowski T., Medina M., Schierwater B. (2006) Medusozoan phylogeny and character evolution clarified by new large and small subunit rDNA data and assessment of the utility of phylogenetic mixture methods. *Syst. Biol.* 55: 97–115.

Collins A.G. (2002) Phylogeny of Medusozoa and the evolution of cnidarian life cycles. *J. Evol. Biol.* 15: 418–432.

Davidson E.H., Peterson K.J., Cameron R.A. (1995) Origin of bilaterian body plans—evolution of developmental regulatory mechanisms. *Science* 270:1319–1325.

Degnan S.M., Degnan B.M. (2006) The origin of the pelagobenthic metazoan life cycle: What's sex got to do with it? *Integr. Comp. Biol.* 46:683–690.

Domazet-Loso T., Tautz D. (2010) A phylogenetically based transcriptome age index mirrors ontogenetic divergence patterns. *Nature* 468:815–818.

Dunn E.F., Moy V.N., Angerer L.M., Angerer R.C., Morris R.L., Peterson K.J. (2007) Molecular paleoecology: using gene regulatory analysis to address the origins of complex life cycles in the Late Precambrian. *Evol. Dev.* 9:10–24.

Erwin D.H. (2006) The developmental origins of animal bodyplans. In: Xiao S.H, Kaufman A.J, editors. *Neoproterozoic geobiology and paleobiology*. Plenum; New York, NY. pp. 159–197.

Erwin D.H., Davidson E.H. (2002) The last common bilaterian ancestor. *Development*. 129:3021–3032.

Gibert J.M., (2002) The evolution of engrailed genes after duplication and speciation events. *Dev Genes Evol* 212: 307–318.

Gustavson E., Goldsborough A.S., Ali Z., Kornberg T.B. (1996) The *Drosophila engrailed* and *invected* genes: Partners in regulation, expression, and function. *Genetics* 142:893–906.

Haeckel E. (1896) *The evolution of man: a popular exposition of the principal points of human ontogeny and phylogeny*, Appleton, New York

Jacobs D.K. *et al* (2000) Molluscan engrailed expression, serial organization, and shell evolution. *Evol. and Dev.* 2:340–347.

Jagersten G. (1972) Evolution of the metazoan life cycle. Academic Press, London

Jenner R.A. (2000) Evolution of animal body plans: the role of metazoan phylogeny at the interface between pattern and process. *Evol. Dev.* 2:208–221.

Kopan R., Ilagan M.X. (2009) The canonical Notch signaling pathway: unfolding the activation mechanism. *Cell.* 137:216–233.

Kornberg T. (1981) Engrailed: a gene controlling compartment and segment formation in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 1095–1099.

Lawrence P.A., Struhl G. (1982) Further studies of the engrailed phenotype in *Drosophila*. *Embo. J.* 1:827–833.

Lawrence P.A., Morata G. (1976) Compartments in the wing of *Drosophila*: a study of the engrailed gene. *Dev. Biol.* 50: 321–337.

Matoni I., Habdija I., Habdija-Primc B. (1998) Beskralješnjaci, biologija nižih avvertebrata, Zagreb, Školska knjiga

McEdward L.R., Miner B.G. (2001) Larval and life-cycle patterns in echinoderms. *Can. J. Zool.* 79:1125–1170.

McEdward L.R. i Janies D.A. (1993) Life cycle evolution in asteroids: What is a larva? *Biol. Bull.* 184:255–268.

Morata G, Lawrence PA (1975) Control of compartment development by the engrailed gene in *Drosophila*. *Nature* 255:614–617.

Nielsen C. (2009) How did indirect development with planktotrophic larvae evolve? *Biol. Bull.* 216:203–215.

Nielsen C. (2005) Larval and adult brains. *Evol. Dev.* 7:483–489

Nielsen C., Norrevang A. (1985) The trochaea theory: an example of life cycle phylogeny.

Nilsson D.E., Gislen L., Coates M.M., Skogh C., Garm A. (2005) Advanced optics in a jellyfish eye. *Nature* 435:201–205

Page L.R. (2009) Molluscan larvae: Pelagic Juvenils or Slowly Metamorphosis Larvae? Biol. Bull. 216: 216-225.

Pannuti A., Foreman K., Rizzo P. *et al.* (2010) Targeting Notch to target cancer stem cells. Clin. Cancer Res. 16:3141–3152.

Peterson K.J. (2005) Macroevolutionary interplay between planktonic larvae and benthic predators. Geology 33:929–932.

Peterson K.J., Cameron R.A., Davidson E.H. (1997) Set-aside cells in maximal indirect development: evolutionary and developmental significance. BioEssays 19, 623–631. In: Arena-Mena C. (2010) Indirect development, transdifferentiation and the macroregulatory evolution of metazoans. Phil. Trans. R. Soc. B. 365:653-669.

Prum R.O., Brush A.H. (2003) Which Came First, the Feather or the Bird? Scientific American 288 (3): 84–93.

Xiao S., Knoll A.H. (2000) Phosphatized animal embryos from the Neoproterozoic Doushanto Formation at Weng'an, Guizhou, South China. J. Paleont. 74:767–788.

Radtke F., Raj K. (2003) The role of Notch in tumorigenesis: oncogene or tumour suppressor? Nat Rev Cancer 3:756–767.

Raff, R.A. (2008) Origins of the other metazoan body plans: the evolution of larval forms, Phylos Trans R Soc Lond B Bio Sci 363(1496):1473-1479.

Ramachandra N.B., Gates R.D., Ladurner P., Jacobs D.K., Hartenstein V. (2002) Embryonic development in the primitive bilaterian *Neochildia fusca*: normal morphogenesis and isolation of POU genes Brn-1 and Brn-3. Dev. Genes Evol. 212:55–69.

Rieger R.M. (1994) The biphasic life-cycle—a central theme of metazoan evolution. Am. Zool. 34:484–491.

Rouse, G.W. (2000) The epitome of hand waving? Larval feeding and the hypotheses of metazoan phylogeny. Evol. Dev. 2:222–233.

Rouse, G.W. (1999) Trochophore concepts: ciliary bands and the evolution of larvae in spiralian Metazoa. Biol. J. Linn. Soc. 66: 411–464.

Ruiz-Trillo, I., Inagaki, Y., Davids, L.A., Sperstad, S., Landfald, B., Roger, A.J. (2004) *Capsaspora owczarzaki* is an independent opisthokont lineage. *Current Biology* 14:946-947.

Sempre, L.F., Martinez, P., Cole, C., Baguna, J., Peterson, K.J. (2007) Phylogenetic distribution of microRNAs supports the basal position of acoela flatworms and the polyphyly of Platyhelminthes. *Evo. and Devo.* 9:409-415.

Shaham O., Menuchin Y., Farhy C., Ashery-Padan R. (2012) Pax6: a multi-level regulator of ocular development. *Prog Retin Eye Res* 31: 351–376.

Sly, B.J., Snoke M.S., and Raff R.A. (2003) Who came first—larvae or adults? Origins of bilaterian metazoan larvae. *Int. J. Dev. Biol.* 47: 623–632.

Strathmann, R. R. (1993) Hypotheses on the origins of marine larvae. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24: 89–117.

Thorson, G. (1950) Reproduction and larval ecology of marine bottom invertebrates. *Biol. Rev.* 25:1–45.

Webster P.J., Mansour T.E. (1992) Conserved classes of homeodomains in *Schistosoma mansoni*, an early bilateral metazoan. *Mech. Dev.* 38:25–32.

Wilson K.A., Andrews M.E., Raff R.A. (2005) Dissociation of expression patterns of homeodomain transcription factors in the evolution of developmental mode in the sea urchins *Heliocidaris tuberculata* and *H. erythrogramma*. *Evol. Dev.* 7:401–415.

Wray G.A. (1996) Parallel evolution of nonfeeding larvae in echinoids. *Syst. Biol.* 45:308–322.

Yuan D., Nakanishi N., Jacobs D.K., Hartenstein V. (2008) Embryonic development and metamorphosis of the scyphozoan Aurelia. *Dev. Genes Evol.* 218:525–539.

Korišteni internetski resurs:

http://en.wikipedia.org/wiki/Notch_signaling_pathway

8. Sažetak

Evo-Devo je grana biologije koja uspoređuje razvojne procese različitih organizama za određivanje ancestralnog odnosa među njima i otkivanje kako su evoluirali razvojni procesi. U ovom radu usmjerila sam se na aspekt unutar područja Evo-Devo, a radi se o porijeklu ličine u ontogenijama nekih organizama. Dvije hipoteze dominiraju trenutnim mišljenjem o ovoj temi: „larva-first“ i „adult-first“ hipoteze. Sve do nedavno „larva-first“ je bila prihvaćena u znanstvenom krugu. Ona predlaže da su višestanični organizmi prije nastanka bilateralnih organizama bili mala, isključivo planktonska bića koja su plivala i lovila raspršene čestice hrane koristeći samo cilijarne vrpce. Iz tog matičnog oblika evoluirale su trohoforske i dipleurske linije, a svaka navedena linija naknadno je evoluirala bentički stadij u životnom ciklusu. Drugi prijedlog o porijeklu pelagičnog bentičkog životnog ciklusa, interkalacijska ili „adult-first“ hipoteza, rekonstruira prvog bilateralnog organizma, kao isključivo bentičkog. Ovi ancestralni bilateralni organizmi sekundarno su evoluirali planktonsku ličinku, kada su u stadiju ranog razvoja evoluirale cilije te je postao privremeno pelagički prije povratka na bentos.

Porijeklo indirektnog razvoja je potencijalno važna tema za evolucijsku biologiju jer ako odgonetnemo porijeklo ličinke u ontogeniji nekih organizama, možda ćemo biti sposobni rekonstruirati tijek animalne evolucije, odnosno na čijim se odvijala divergencija koljena.

9. Summary

Evo-Devo is a field of biology that compares the developmental processes of different organisms to determine the ancestral relationship between them, and to discover how developmental processes evolved. In this review I focused on a particular aspect within the field of Evo-Devo, which is the origin of the larva stage in ontogeny of some organisms. There are two hypotheses that dominate current opinion about this topic: the „larva-first“ and the intercalation hypotheses. Until recently, the „larva-first“ hypothesis was preeminent. This hypothesis implies that pre-bilaterian metazoans were small holoplanktonic creatures that swam and captured suspended food particles by using single ciliary band. This stem form gave rise to trochophore and dipleurula lineages, which each subsequently added a benthic stage to the life cycle. The second proposal for the origin of the pelago-benthic life cycle, the intercalation hypothesis, reconstructs the first bilaterians as holobenthic organisms. These ancestral bilaterians secondarily acquired a planktonic larva when a stage of early development evolved cilia and became temporarily pelagic before returning to the benthos.

The origin of indirect development is potentially an important topic for evolutionary biology, because if we decipher the origin of larvae in ontogeny of some organisms, we may be able to reconstruct the course of animal evolution, and the way it ran divergence of phylum.